



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ & ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ
ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ
ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΟΥ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Παντελαίου Σοφίας

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Ταούκης Πέτρος

ΑΘΗΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2015

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ. Η παρούσα εργασία εμπίπτει στην έρευνα που διεξάγεται στα πλαίσια του έργου «ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ 2011- Εφαρμογή καινοτόμων τεχνολογιών στην παραγωγή γιαουρτιού με αυξημένες βιολειτουργικές ιδιότητες» [Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα & Επιχειρηματικότητα (ΕΠΑΝ ΙΙ), ΠΕΠ Μακεδονίας-Θράκης, ΠΕΠ Κρήτης & Νησιών Αιγαίου, ΠΕΠ Θεσσαλίας- Στερεάς Ελλάδας-Ηπείρου, ΠΕΠ Αττικής, ΕΣΠΑ 2007-2013].

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή κ. Ταούκη Πέτρο για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, την καθοδήγηση και τη βοήθεια που μου προσέφερε, και την άριστη συνεργασία που είχα μαζί του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως τη Δρ. Τσεβδού Μαρία για τις γνώσεις της, την υποστήριξη, την καθοδήγηση και την ανεκτίμητη βοήθεια που μου προσέφερε όλους αυτούς τους μήνες, αλλά και για την υπομονή της σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας αυτής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την κα. Χατζηγεωργίου Άρτεμις, διευθύντρια του Τμήματος Έρευνας και Ανάπτυξης της εταιρείας ΔΕΛΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ Α.Ε., για την ευκαιρία που μου έδωσε να συνεργαστώ τόσο με την ίδια όσο και με τα υπόλοιπα μέλη του Τμήματος, στα πλαίσια της πρακτικής μου άσκησης αλλά και μετέπειτα, για την παροχή των πρώτων υλών που απαιτήθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στη διευθύντρια του Πιλοτικού Εργαστηρίου Έρευνας & Ανάπτυξης της εταιρείας ΔΕΛΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ Α.Ε., κα. Μαρκαντώνη Μαρία, αλλά και στον προκάτοχο της κ. Στάμο Αποστόλη.

Θερμές ευχαριστίες στον καθηγητή κ. Πολίτη Ιωάννη και τον Δρ. Θεοδώρου Γιώργο, από το Εργαστήριο Γενικής & Ειδικής Ζωοτεχνίας του τμήματος Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του ΓΠΑ, για την συμβολή τους κατά τη διάρκεια των μετρήσεων των ανοσο-ρυθμιστικών ιδιοτήτων.

Ευχαριστώ θερμά τους Καθηγητές και όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του ΕΜΠ, για τη συνεργασία και το φιλικό κλίμα καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, και ιδιαίτερα το Δρ. Αλεξανδράκη Ζαχαρία, την υποψήφια διδάκτορα Γιαννόγλου Μαριάννα και την ερευνήτρια Πλατάκου Ελένη, για την βοήθεια τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να δώσω ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στο γονείς μου, Χρυσούλα και Γιώργο, και την αδερφή μου, Κατερίνα, για την αμέριστη υποστήριξη τους σε κάθε βήμα τους ζωής μου, και στους οποίους οφείλω ότι έχω καταφέρει μέχρι σήμερα.

Με εκτίμηση,

Σοφία Παντελαίου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα ζυμωμένα γάλατα, και συγκεκριμένα το γιαούρτι αποτελεί βασικό στοιχείο της διατροφής των περισσότερων ανθρώπων, λόγω της υψηλής του διατροφικής αξίας. Το γιαούρτι, αποτελείται από πολλά συστατικά, καθένα από τα οποία παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην δομή του τελικού προϊόντος, ενώ χαρακτηρίζεται τόσο από το είδος του γάλακτος που θα χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη, όσο και από τον τρόπο παραγωγής του. Οι πρωτεΐνες αποτελούν το βασικότερο συστατικό του γιαουρτιού, διότι επηρεάζουν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και σχετίζονται με τις βιο-λειτουργικές ιδιότητες του τελικού όξινου πηγμάτος. Η τροποποίηση της διασύνδεσης των πρωτεϊνών του γάλακτος μπορεί να αποτελέσει μία εναλλακτική μέθοδο προκειμένου να παραχθούν προϊόντα με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και ενισχυμένες βιο-λειτουργικές ιδιότητες. Οι δύο βασικότερες εναλλακτικές τεχνολογίες τροποποίησης των πρωτεϊνών σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση (ΥΠ) και η ενζυμική επεξεργασία με τρανσγλουταμινάση (TGase) του γάλακτος.

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε η χρήση της ενζυμικής επεξεργασίας με TGase (σε συγκέντρωση ενζύμου 2,0 Units/g πρωτεΐνης, επώαση στους 43°C για 180 min, και απενεργοποίηση του ενζύμου στους 80°C για 1 min) και της τεχνολογίας της ΥΠ (600 MPa/55°C για 10 min), εφαρμοζόμενες μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, κατά την παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού τύπου σετ. Η εφαρμογή των παραπάνω τεχνολογιών πραγματοποιήθηκε σε δείγματα γάλακτος διαφορετικής προέλευσης (αγελαδινό και πρόβειο) και χαμηλών λιπαρών (0% και 2%), καθώς και σε γάλατα με ενισχυμένο πρωτεϊνικό περιεχόμενο (προσθήκη 1,62% πρωτεΐνης ορού), με σκοπό να μελετηθεί α) η επίδραση των τεχνολογιών αυτών στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, και β) η δυνατότητα αντικατάστασης των συμβατικών τεχνολογιών παραγωγής του γιαουρτιού (θερμική επεξεργασία, χρήση σταθεροποιητών) με τις παραπάνω εναλλακτικές τεχνολογίες.

Στην περίπτωση των δειγμάτων από αγελαδινό γάλα και όσον αφορά στα χαρακτηριστικά υφής, και συγκεκριμένα στη σφικτότητα, παρατηρήθηκαν σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές στις τιμές ανάλογα με την εφαρμοζόμενη επεξεργασία στο γάλα. Συγκεκριμένα, η ενζυμική επεξεργασία με TGase βελτίωσε την σφικτότητα του πηγμάτος (σ.μ.ο.¹: 134,8 g), αλλά η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές σε σχέση με την απλή θερμική επεξεργασία (σ.μ.ο.: 87,8 g για τη ΥΠ και 90,2 g για τη θερμική). Ο συνδυασμός των δύο μεθόδων επέφερε την μεγαλύτερη τιμή σφικτότητας (σ.μ.ο.: 291,6 g). Σημαντικά ($p < 0,001$) επέδρασε και η συγκέντρωση των λιπαρών στο γάλα, με το γιαούρτι με 2% περιεκτικότητα σε λιπαρά να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή σφικτότητας. Η προσθήκη της πρωτεΐνης ορού, είχε ως αποτέλεσμα σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές στις τιμές της σφικτότητας, αφού επέφερε χαμηλότερη τιμή αυτής της ιδιότητας σε σχέση με τα δείγματα στα οποία δεν είχε πραγματοποιηθεί προσθήκη. Σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές επέφεραν οι σχεδιαστικές παράμετροι και στις τιμές της προσκολλησιμότητας. Η ενζυμική

¹ σ. μ. ο.: στατιστικός μέσος όρος

επεξεργασία παρουσίασε την χαμηλότερη απόλυτη τιμή προσκολλησιμότητας (σ.μ.ο.: -27,2 g-s), ενώ η επεξεργασία με ΥΠ είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη τιμή σε σχέση με την απλή θερμική επεξεργασία. Τη μέγιστη τιμή προσκολλησιμότητας παρουσίασαν τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με τον συνδυασμό των δύο τεχνολογιών. Τα δείγματα με αυξημένα λιπαρά (2%) παρουσίασαν υψηλότερες τιμές προσκολλησιμότητας σε σχέση με τα δείγματα από άπαχο γάλα, ενώ η προσθήκη της πρωτεΐνης στο γάλα, επέφερε χαμηλότερες τιμές προσκολλησιμότητας στο τελικό όξινο πήγμα. Οι τιμές της συνεκτικότητας φάνηκε να επηρεάζονται σημαντικά ($p < 0,001$) από τις σχεδιαστικές παραμέτρους τους πειράματος. Η ενζυμική επεξεργασία και η επεξεργασία με ΥΠ του γάλακτος επέφεραν υψηλότερες τιμές συνεκτικότητας στο γιαούρτι σε σχέση με το θερμικά επεξεργασμένο γάλα, ενώ η συνδυαστική επεξεργασία του γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα χαμηλότερη τιμή συνεκτικότητας στο πήγμα. Η σύσταση του γάλακτος σε λιπαρά και η προσθήκη πρωτεΐνης ορού ήταν πιο καθοριστικοί παράγοντες στην διαμόρφωση της συνεκτικότητας του πηγματος. Τα δείγματα με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές συνεκτικότητας, ενώ τα δείγματα στα οποία είχε πραγματοποιηθεί προσθήκη πρωτεΐνης παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές συνεκτικότητας.

Τόσο η σύσταση του γάλακτος όσο και η εκάστοτε επεξεργασία του δεν επέφεραν σημαντικές διαφορές στο μικροβιακό φορτίο των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (*Str. thermophilus* και *L. bulgaricus*), όπως αυτό μετρήθηκε 3 ημέρες μετά την ζύμωση των προϊόντων. Επιπρόσθετα, το συνολικό φορτίο των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης βρέθηκε εντός και άνω των νομοθετικών ορίων ($\geq 7,0 \log_{10} \text{CFU/g}$). Όσον αφορά στις φυσικοχημικές ιδιότητες των τελικών όξινων πηγμάτων, οι σχεδιαστικές παράμετροι του πειράματος δεν είχαν σημαντική επίδραση στο pH των δειγμάτων, όπως αυτό μετρήθηκε 3 ημέρες μετά την ζύμωση των προϊόντων. Αντίθετα, η λιποπεριεκτικότητα των δειγμάτων φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά ($p < 0,001$) την οξύτητα, με τα δείγματα από άπαχο γάλα να εμφανίζουν τις χαμηλότερες τιμές οξύτητας. Το φαινόμενο της αποβολής του ορού επηρεάστηκε σημαντικά από όλες τις παραμέτρους του πειράματος. Η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ δεν επηρέασε σημαντικά το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού (σ.μ.ο.: 44,2% για τη ΥΠ και 44,0% για τη θερμική), σε αντίθεση με την ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος που μείωσε το ποσοστό αυτό (σ.μ.ο.: 33,8%), ενώ η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε για τα δείγματα από γάλα που επεξεργάστηκε με συνδυασμό των μεθόδων. Επιπρόσθετα, τόσο η υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, όσο και η προσθήκη πρωτεΐνης επέδρασαν σημαντικά στη μείωση του ποσοστού του αποβαλλόμενου ορού.

Όσον αφορά στην μελέτη των αντι-υπερτασικών ιδιοτήτων, οι παράμετροι της επεξεργασίας, της λιποπεριεκτικότητας, της προσθήκης πρωτεΐνης αλλά και του χρόνου αποθήκευσης επηρέασαν σημαντικά ($p < 0,001$) το ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης των γιαουρτιών. Η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος μείωσε το ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης, σε σχέση με τις άλλες επεξεργασίες. Τα δείγματα γιαουρτιού με συγκέντρωση 2% σε λιπαρά παρουσίασαν υψηλότερη αντι-υπερτασική δράση, ενώ στα δείγματα που είχε γίνει προσθήκη πρωτεΐνης το ποσοστό αυτό μειώθηκε. Αξίζει να σημειωθεί, πως μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης το ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης των δειγμάτων γιαουρτιού είχε μειωθεί σημαντικά ($p < 0,01$). Οι προκαταρκτικές μετρήσεις των ανοσο-ρυθμιστικών ιδιοτήτων οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η εφαρμογή των εναλλακτικών τεχνολογιών στο γάλα είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των

προφλεγμονωδών γονιδίων των δειγμάτων, ενώ στην περίπτωση των αντιφλεγμονωδών γονιδίων, παρατηρήθηκε ότι η επεξεργασία του γάλακτος με TGase οδήγησε σε αυξημένη συγκέντρωση των γονιδίων αυτών.

Στην περίπτωση των δειγμάτων από πρόβειο γάλα και όσον αφορά στα χαρακτηριστικά υφής, και συγκεκριμένα στη σφικτότητα, παρατηρήθηκαν σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές στις τιμές ανάλογα με την επεξεργασία. Συγκεκριμένα, η ενζυμική επεξεργασία με TGase βελτίωσε τη σφικτότητα του πηγματος (σ.μ.ο.: 327,4 g), αλλά η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές, σε σχέση με την απλή θερμική επεξεργασία (σ.μ.ο.: 219,0 g για τη ΥΠ και 217,7 g για τη θερμική). Ο συνδυασμός των δύο μεθόδων επέφερε τη μέγιστη τιμή σφικτότητας (σ.μ.ο.: 513,2 g). Σημαντικά ($p < 0,001$) επέδρασε και η συγκέντρωση των λιπαρών στο γάλα, με το γιαούρτι με 2% περιεκτικότητα σε λιπαρά να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή σφικτότητας. Σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές επέφεραν οι σχεδιαστικές παράμετροι και στις τιμές της προσκολλησιμότητας. Η ενζυμική επεξεργασία παρουσίασε την χαμηλότερη τιμή προσκολλησιμότητας (σ.μ.ο.: -57,1 g·s), ενώ η επεξεργασία με ΥΠ (σ.μ.ο.: -113,2 g·s) είχε ως αποτέλεσμα μικρότερη τιμή σε σχέση με την απλή θερμική επεξεργασία (σ.μ.ο.: -122,3 g·s). Η εφαρμογή συνδυασμένης τεχνολογίας στο γάλα, επηρέασε θετικά την προσκολλησιμότητα του τελικού πηγματος, με την τιμή της να είναι υψηλότερη από την αντίστοιχη για τα δείγματα από ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα (σ.μ.ο.: -93,7 g·s). Τα δείγματα με αυξημένα λιπαρά (2%) παρουσίασαν υψηλότερες τιμές προσκολλησιμότητας σε σχέση με τα δείγματα από άπαχο γάλα. Οι τιμές της συνεκτικότητας δεν φάνηκε να επηρεάζονται από όλες τις σχεδιαστικές παραμέτρους τους πειράματος παρά μόνο από την επεξεργασία του γάλακτος. Η ενζυμική επεξεργασία, είτε όταν εφαρμόστηκε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με την τεχνολογία της ΥΠ, αύξησε σημαντικά την συνεκτικότητα του πηγματος, σε σχέση με την απλή θερμική επεξεργασία ή την επεξεργασία με ΥΠ.

Το μικροβιακό φορτίων των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (*Str. thermophilus* και *L. bulgaricus*) στα προϊόντα από γάλα πρόβειας προέλευσης δε φάνηκε να επηρεάζεται ούτε από τη σύσταση του γάλακτος, ούτε από την εκάστοτε επεξεργασία, όταν αυτό μετρήθηκε 3 ημέρες μετά την ζύμωση των προϊόντων του πρόβειου γάλακτος. Επιπρόσθετα, το συνολικό φορτίο βρέθηκε εντός και άνω των νομοθετικών ορίων ($\geq 7,0 \log_{10} \text{CFU/g}$). Όσον αφορά στις φυσικοχημικές ιδιότητες των τελικών όξινων πηγμάτων, οι σχεδιαστικές παράμετροι του πειράματος είχαν σημαντική επίδραση στο pH των δειγμάτων, όπως αυτό μετρήθηκε 3 ημέρες μετά την ζύμωση των προϊόντων. Η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος, είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερη τιμή pH στα όξινα πηγματα (σ.μ.ο.: 4,53) από την αντίστοιχη τιμή για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένο γάλα (σ.μ.ο.: 4,41), ενώ η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ δεν επέφερε στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές pH των δειγμάτων (σ.μ.ο.: 4,44) σε σχέση με τις τιμές για τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Η εφαρμογή της συνδυασμένης τεχνολογίας στο γάλα, είχε ως αποτέλεσμα η τιμή του pH να διαφοροποιείται σημαντικά από την θερμική επεξεργασία και από την ενζυμική. Επίσης, τα δείγματα με περιεκτικότητα 2% σε λιπαρά παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη τιμή pH από τα αντίστοιχα με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά. Η τεχνολογία της ενζυμικής επεξεργασίας στο γάλα επέδρασε σημαντικά στην τιμή της οξύτητας σε σχέση με τις υπόλοιπες τεχνολογίες επεξεργασίας, και ταυτόχρονα η αυξημένη περιεκτικότητα σε λιπαρά (2%) οδήγησε σε σημαντικά υψηλότερες τιμές οξύτητας. Το φαινόμενο της αποβολής του ορού δεν επηρεάστηκε σημαντικά

από όλες τις παραμέτρους του πειράματος. Αρχικά, τα δείγματα από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ παρουσίασαν αυξημένο ποσοστό αποβολής ορού (σ.μ.ο.: 31,4%) σε σχέση με αυτά από γάλα που είχε υποστεί θερμική επεξεργασία (σ.μ.ο.: 22,3%). Η ενζυμική επεξεργασία ελάττωσε το ποσοστό αποβολής ορού (σ.μ.ο.: 13,6%), ενώ η συνδυασμένη εφαρμογή της ΥΠ και της TGase είχε ως αποτέλεσμα το χαμηλότερο ποσοστό αποβολής ορού (σ.μ.ο.: 10,5%). Αντίθετα με τη μέθοδο επεξεργασίας, η σύσταση του γάλακτος σε λιπαρά, δεν παρουσίασε σημαντική επίδραση στο ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού.

Οι αντι-υπερτασικές ιδιότητες στα δείγματα από πρόβειο γάλα επηρεάστηκαν κυρίως από την περιεκτικότητα σε λιπαρά, διότι αυξανόμενης της περιεκτικότητας (από 0% σε 2%), παρατηρήθηκε σημαντική ($p<0,001$) μείωση στο ποσοστό αντι-υπερτασικής δράσης. Όσον αφορά στην επεξεργασία του γάλακτος, η εφαρμογή της ΥΠ δεν επέφερε διαφορές σε σχέση την απλή θερμική επεξεργασία. Ωστόσο, η ενζυμική επεξεργασία διαφοροποιήθηκε, μειώνοντας το ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης των δειγμάτων. Αξίζει να σημειωθεί, πως μετά από αποθήκευση 40 ημερών, η αντι-υπερτασική δράση στα γιαούρτια αυξήθηκε σημαντικά ($p<0,001$) (σ.μ.ο.: 70,0% μετά από 3 ημέρες παραγωγής και 90,0% μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης). Όσον αφορά στις ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα με 2% περιεκτικότητα σε λιπαρά εμφανίστηκαν πιο σταθερά ως προς τις ιδιότητες αυτές, ενώ η εφαρμογή των μελετώμενων τεχνολογιών στο γάλα οδήγησε σε δείγματα με μειωμένη συγκέντρωση προφλεγμονωδών γονιδίων, ενώ στην περίπτωση των αντιφλεγμονωδών γονιδίων δεν παρατηρήθηκαν μεγάλες μεταβολές στη συγκέντρωσή τους.

Συμπερασματικά, η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος, είτε όταν εφαρμόζεται μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με την ΥΠ, βελτιώνει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του πηγματος, όπως είναι η σφικτότητα, η προσκολλησιμότητα, η συνεκτικότητα και η αποβολή του ορού, είτε στο αγελαδινό είτε στο πρόβειο γάλα. Η προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης δεν βελτίωσε ιδιαίτερα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα, με εξαίρεση το φαινόμενο της συναίρεσης. Επιπρόσθετα, η αύξηση της λιποπεριεκτικότητας από 0 σε 2% φάνηκε να βελτιώνει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, όμως όχι και τις αντι-υπερτασικές τους ιδιότητες, κυρίως για τα δείγματα από πρόβειο γιαούρτι. Από τη μελέτη τόσο των ποιοτικών όσο και των βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων των παραγόμενων πηγμάτων μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι είναι δυνατόν να επιτευχθεί σημαντική βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και ενίσχυση των βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων στην περίπτωση παραγωγής όξινων πηγμάτων από μίγμα γάλακτος των δύο πηγών προέλευσης, και με μεμονωμένη ή συνδυασμένη εφαρμογή της ΥΠ και της TGase.

ABSTRACT

Fermented milks, and especially yoghurt, are a key element of most people's diet, due to their high nutritional value. Yoghurt consists of many ingredients each of which plays an important role in the structure of the final product, whilst it is defined by the milk type used as raw material as well as by the applied production methods. Proteins are the most basic ingredients of yoghurt, as they affect its perceived quality characteristics and are related to the bio-functional properties of the final acid gel. Cross-linking of milk proteins can provide an alternative method for the production of gels with improved quality characteristics and enhanced bio-functional properties. The two main alternative technologies, according to references, that serve this purpose are High Pressure (HP) processing of milk and enzymatic cross-linking via transglutaminase (TGase) of milk proteins.

The objective of this thesis was the implementation of enzymatic cross-linking via TGase (enzyme concentration 2.0 Units/g of protein, incubation at 43°C for 180 min and enzyme inactivation at 80°C for 1 min) and HP (600 MPa/55°C for 10 min), applied individually or in combination, during the production of set-type yoghurt. The former technologies were applied in samples of non- or low-fat (0% and 2%) bovine and ovine milk, as well as in milk samples fortified with whey protein concentrate (addition of 1.62% whey protein concentrate). The aim was to study: a) the effect of these technologies on the quality attributes and bio-functional properties of the produced acid gels and, b) the potential replacement of the conventional production technologies of yoghurt (thermal processing, use of stabilizers) with the aforementioned technologies.

In the case of acid gels prepared from **bovine milk**, the textural parameter of firmness found to be significantly depended ($p < 0.001$) on the type of applied treatment in milk. In particular, TGase pre-treatment of milk improved the firmness of the final coagulum (s.m.v.²: 134.8 g), while HP treatment of milk revealed minor effect on the corresponding values in comparison to conventional thermal pretreatment of milk (s.m.v.: 87.8 g and 90.2 g respectively). The combination of the two processes resulted in the highest value of firmness (s.m.v.: 291.6 g). Moreover, the fat content of milk had a major impact ($p < 0.001$) on the parameter of firmness, with 2% fat yoghurt exhibiting the highest firmness value. The addition of whey protein concentrate resulted in significant ($p < 0.001$) differences in the values of firmness, since samples prepared from milk with addition of external whey protein presented lower values comparing to the corresponding ones of samples prepared from milk without protein addition. Moreover, all the experimental factors influenced significantly ($p < 0.001$) the obtained adhesiveness values. Acid gels from TGase-treated milk presented the lowest adhesiveness absolute value (s.m.v.: -27.2 g·s), while the HP process of milk resulted in samples with higher adhesiveness as compared to the ones of samples from thermally treated milk. The combined application of the tested technologies led to samples presenting the highest absolute values of adhesiveness. In addition, samples from milk of low-fat content (2%) exhibited higher values of adhesiveness in comparison to the ones of samples from non-fat milk, while the addition of protein resulted in decrease in adhesiveness values in the final acid gel. Furthermore, the cohesiveness

² s.m.v.: statistical mean value

values appeared to be significantly ($p < 0.001$) affected by the experimental design parameters. TGase pre-treatment and HP process of milk led to increase in cohesiveness values in the final product, whereas the combined application of these technologies resulted in decrease in cohesiveness values. The fat content of milk and the whey proteins addition appeared to be the most decisive factors in determining the cohesiveness of the gel. Finally, the non-fat yoghurt samples had lower cohesiveness values, while the samples with whey proteins addition indicated higher values.

None of the experimental design factor influenced the microbial counts of microorganisms of the starter culture (*Str. thermophilus* and *L. bulgaricus*), as they were estimated after 3 days of storage. Additionally, total counts of the microorganisms of starter culture found to be within and above the required statutory limits ($\geq 7.0 \log_{10} \text{CFU/g}$) for all tested samples. With regards to physicochemical indices of the tested samples, the experimental design parameters had no significant impact on the pH values, particularly during the first 3 days of storage. On the contrary, an increase in fat content significantly ($p < 0.001$) affect samples acidity, since non-fat yoghurt samples showed the lowest values. Whey separation found to be significantly depended on all experimental design factors. Although, samples prepared from HP-treated milk exhibited similar whey separation percentages with samples from thermally treated milk (s.m.v.: 44.2% and 44.0% respectively), though TGase pre-treatment of the milk led to decrease in the corresponding percentages (s.m.v.: 33.8%); the subsequently application of HP and TGase treatment in milk resulted in even lower percentages. Finally, the increase in both fat and protein content led also to decrease in whey separation percentages for all tested samples.

Considering the anti-hypertensive properties of yoghurt, their percentage was significantly ($p < 0.001$) affected by parameters such as processing, fat content, addition of whey proteins, as well as, storage time. The enzymatic treatment of milk reduced the percentage of the anti-hypertensive activity of yoghurt samples comparing to other processes of milk. Yoghurt samples with increased fat content showed higher anti-hypertensive activity percentages, while whey protein fortification of milk resulted in lowering of these percentages. It is worth mentioning that after 40 days of storage, the percentage of anti-hypertensive activity of yoghurt had significantly ($p < 0.01$) decreased. From the preliminary measurements of the immunomodulatory properties it was observed that the application of alternative technologies in milk resulted in the reduction of pro-inflammatory genes concentration, whereas in the case of anti-inflammatory genes, TGase treatment of milk led to increased concentration of these genes.

In the case of acid gels prepared from ovine milk, the textural parameter of firmness was significantly ($p < 0.001$) influenced by the applied processing in milk. TGase pre-treatment of milk led to improvement of gel firmness (s.m.v.: 327.4 g), while samples from HP and thermally treated milk exhibited similar values (s.m.v.: 219.0 g and 217.7 g respectively). On the other hand, the combined application of the above technologies resulted in the highest firmness value (s.m.v.: 513.2 g). The increase in fat content of milk resulted in an increase in firmness of the final product. Significant ($p < 0.001$) differences in the adhesiveness values were also observed among all tested samples. Acid gels from TGase-treated milk presented the lowest adhesiveness absolute value (s.m.v.: -57.1 g-s),

while the HP process of milk resulted in samples with lower adhesiveness (s.m.v.: -113.2 g·s) as compared to the ones of samples from thermally treated milk (s.m.v.: -122.3 g·s). The combined application of HP and TGase treatment in milk resulted in higher adhesiveness absolute value than that of the sample from combined thermal and TGase treatment (s.m.v.: -93.7 g·s). Yoghurt samples prepared from low-fat milk presented higher adhesiveness absolute values comparing to the corresponding ones of samples from the non-fat milk. Most of the tested experimental design parameters seemed not to affect the values of the cohesiveness of the final product. However, TGase pre-treatment, when applied either individually or in combination with HP, led to an increase in the cohesiveness of the coagulum. With regard to milk composition, fat content had no effect on the parameter of cohesiveness.

As previously mentioned, none of the experimental design factor influenced the microbial counts of microorganisms of the starter culture (*Str. thermophilus* and *L. bulgaricus*), as they were estimated after 3 days of storage. Additionally, total counts of the microorganisms of starter culture found to be within and above the required statutory limits ($\geq 7.0 \log_{10} \text{CFU/g}$) for all tested samples. Regarding the physicochemical properties of the final acid gels, all the experimental design parameters had a significant impact on the pH values of samples. The enzymatic treatment of ovine milk led to higher pH values (s.m.v.: 4.53) of the coagulum as compared to the ones of samples from thermally (s.m.v.: 4.41) or HP (s.m.v.: 4.44) treated milk. Furthermore, the low-fat samples revealed a higher pH value in comparison to the non-fat samples. The enzymatic cross-linking significantly affected the acidity of samples as compared to all other applied technologies. An increased in milk fat content led also to an increased in acidity of the coagulum. Whey separation did not seem to be affected from all the experimental design factors. HP process of milk resulted in increase in whey separation percentage (s.m.v.: 31.4%) in comparison to thermal processing (s.m.v.: 22.3%). In contrast, TGase treatment of milk led to a decrease in this percentage (s.m.v.: 13.6%), while the combination of the studied technologies resulted in the lowest whey separation percentage (s.m.v.: 10.5%). Milk composition (i.e. fat content) had no effect on the phenomenon of syneresis.

The anti-hypertensive properties of the samples made from ovine milk were significantly ($p < 0.001$) affected on milk composition, since an increasing in fat content (from 0% to 2%) resulted in a decrease of the percentage of anti-hypertensive activity of yoghurt samples. Regarding the applied treatment in milk, HP had no significant effect on this parameter when compared to conventional thermal treatment of milk. On the other hand, enzymatic treatment of milk resulted in a significant ($p < 0.001$) reduction of the anti-hypertensive activity percentage. The addition of exogenous whey proteins did not improve the quality properties of yoghurt prepared from bovine milk, except for the syneresis phenomenon. After 40 days of storage, the percentage of anti-hypertensive activity of all tested yoghurt samples was considerably increased (s.m.v.: 70.0% after 3 days and 90.0% after 40 days of storage). Regarding the immunomodulatory properties of the tested samples, samples with 2% fat content presented constant values of these properties, while the implementation of the proposed technologies in milk resulted in samples with reduced pro-inflammatory gene concentrations, while in the case of anti-inflammatory genes, minor changes of their concentration were observed.

In conclusion, TGase treatment, when applied either individually or in combination with HP treatment, may lead to improvement of the quality characteristics of acid gels, such as firmness, adhesiveness, cohesiveness and syneresis, both from bovine and ovine milk. The addition of milk whey protein did not improve the quality characteristics of yoghurt made from bovine milk, with the exception of syneresis. In addition, the increase in the fat content of milk from 0% to 2% resulted in improved quality characteristics, but had the opposite effect on the anti-hypertensive activity, especially for samples from ovine milk. From the study of both quality characteristics and bio-functional properties of acid gels, it can be suggested that it is possible to achieve significant improvement of the quality characteristics and enhancement of bio-functional properties, in the case of yoghurt production made from a mixture of ovine and bovine milk, and with a combined application of HP and TGase treatment.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	<i>i</i>
ABSTRACT	<i>v</i>
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	<i>ix</i>
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 1 -
1.ΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ	- 3 -
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 3 -
1.2 ΤΟ ΓΑΛΑ.....	- 3 -
1.3 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	- 5 -
1.3.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	- 5 -
1.3.2 ΛΙΠΑΡΑ	- 10 -
1.3.3 ΛΑΚΤΟΖΗ.....	- 11 -
1.3.4 ΕΝΖΥΜΑ	- 11 -
1.3.5 ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ.....	- 13 -
1.3.6 ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ.....	- 14 -
1.4 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	- 14 -
1.5 ΖΥΜΩΜΕΝΑ ΓΑΛΑΤΑ.....	- 16 -
1.5.1 ΓΙΑΟΥΡΤΙ.....	- 16 -
1.5.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ.....	- 18 -
1.5.3 ΕΙΔΗ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ.....	- 20 -
1.5.4 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ	- 26 -
2. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ	- 31 -
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 31 -
2.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ	- 31 -
2.2.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ	- 32 -
2.2.2 ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	- 32 -
2.2.3 ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑ	- 34 -
2.2.4 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ	- 34 -
2.2.5 ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	- 35 -
2.2.6 ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ	- 37 -

2.2.7 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΖΥΜΩΣΗΣ	- 38 -
2.2.8 ΨΥΞΗ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ.....	- 39 -
2.2.9 ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΕΡΓΟΣΤΑΣΙΑΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ.....	- 40 -
2.3 ΝΕΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	- 43 -
2.3.1 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	- 44 -
2.3.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ	- 45 -
2.3.3 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ.....	- 45 -
2.3.4 ΧΡΗΣΗ ΕΝΖΥΜΩΝ	- 46 -
3.ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ.....	- 47 -
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 47 -
3.2 ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ (TRANSGLUTAMINASE, TGASE)	- 48 -
3.2.1 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ	- 48 -
3.2.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ mTGase ΓΙΑ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΧΡΗΣΗ.....	- 50 -
3.2.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΔΟΜΗ ΤΗΣ mTGase	- 52 -
3.2.4 ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ mTGase	- 53 -
3.2.5 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ mTGase.....	- 53 -
3.3 ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ mTGase ΣΤΗ ΓΑΛΑΚΤΟΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ	- 54 -
3.3.1 ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ mTGase ΣΤΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ	- 55 -
3.4 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ TGase ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	- 57 -
4. Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	- 59 -
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 59 -
4.2 ΑΡΧΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ.....	- 60 -
4.3 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ	- 61 -
4.4 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	- 64 -
4.5 ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	- 65 -
4.6 ΕΜΠΟΡΙΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΥΠ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	- 66 -
4.7 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ	- 67 -
4.8 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟ ΤΡΟΦΙΜΑ	- 69 -
4.8.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ	- 69 -
4.8.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	- 71 -
4.9 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	- 79 -
5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ.....	- 81 -

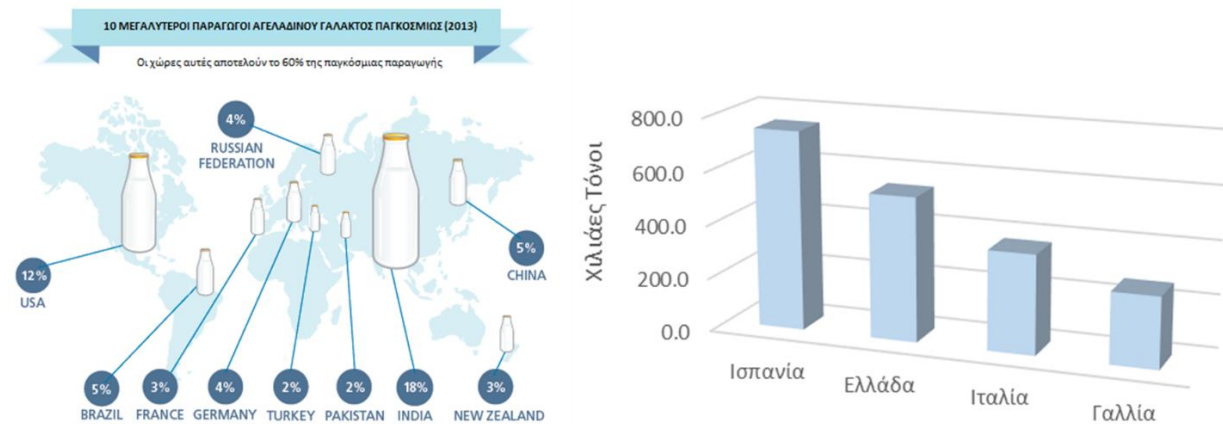
5.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	81 -
5.2	ΥΛΙΚΑ	82 -
5.3	ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ	83 -
5.3.1	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	83 -
5.3.2	ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ.....	84 -
5.3.3	ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ	85 -
5.3.4	ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ ΤΥΠΟΥ ΣΕΤ	86 -
5.4	ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	87 -
5.4.1	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΣΕ ΠΗΚΤΗ ΠΟΛΥΑΚΡΙΛΑΜΙΔΙΟΥ (SDS-PAGE).....	87 -
5.4.2	ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗΣ.....	88 -
5.4.3	ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	89 -
5.4.4	ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ.....	90 -
5.4.5	ΑΝΑΛΥΣΗ ΥΦΗΣ	91 -
5.4.6	ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	93 -
5.4.7	ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΜΗΣ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ.....	95 -
5.5	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	95 -
5.5.1	ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ	96 -
5.5.2	ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ (ΑΚΣ)	96 -
6.	ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ & ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	99 -
6.1	ΓΙΑΟΥΡΤΙ ΤΥΠΟΥ ΣΕΤ ΑΠΟ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟ ΓΑΛΑ	99 -
6.1.1	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ.....	99 -
6.1.2	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ.....	101 -
6.1.3	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ.....	103 -
6.1.4	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ.....	104 -
6.1.5	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΦΗΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ.....	107 -
6.1.6	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΑΝΤΙ-ΥΠΕΡΤΑΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ	110 -
6.1.7	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΑΝΟΣΟ-ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ ..	113 -
6.1.8	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΔΟΜΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ	117 -
6.1.9	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ	119 -

6.2 ΓΙΑΟΥΡΤΙ ΤΥΠΟΥ ΣΕΤ ΑΠΟ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ	- 122 -
6.2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ	- 122 -
6.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ	- 123 -
6.2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ	- 124 -
6.2.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΦΗΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ.....	- 126 -
6.2.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΑΝΤΙ-ΥΠΕΡΤΑΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ	- 128 -
6.2.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΑΝΟΣΟ-ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ..	- 130 -
6.2.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ	- 134 -
6.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ	- 137 -
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	- 143 -
7.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	- 143 -
7.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	- 144 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	- 147 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1 ^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ	- 147 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2 ^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ	- 149 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3 ^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ	- 151 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4 ^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ	- 154 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5 ^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ	- 158 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 6 ^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ	- 159 -
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	- 163 -

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν μία μεγάλη κατηγορία τροφίμων στην οποία περιλαμβάνονται το γάλα, το γιαούρτι και τα παραγόμενα από αυτό επιδόρπια, το τυρί, η σκόνη γάλακτος, το βούτυρο και το παγωτό. Τα προϊόντα αυτά χαρακτηρίζονται για την υψηλή θρεπτική τους αξία, αφού αποτελούν πλούσια πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών, ασβεστίου αλλά και βιολειτουργικών ιδιοτήτων. Στην παρούσα διπλωματική εργασία θα μας απασχολήσει η περίπτωση παραγωγής γιαουρτιού τύπου σετ από γάλα αγελαδινής και πρόβειας προέλευσης χαμηλών λιπαρών, η χρήση καινοτόμων τεχνολογιών για την παραγωγή τους καθώς και η παρουσία βιολειτουργικών πεπτιδίων στα ζυμωμένα γάλατα.

Σύμφωνα με τα στοιχεία του FAO, η παγκόσμια παραγωγή αγελαδινού γάλακτος έφτασε το 2013 τους 747 εκατομμύρια τη, με τις 10 κορυφαίες χώρες να αποτελούν το 60% της παγκόσμιας παραγωγής (**ΕΙΚΟΝΑ 1**). Η Ινδία αποτελεί την μεγαλύτερη γαλακτοπαραγωγό χώρα, αντιπροσωπεύοντας το 18% της παγκόσμιας παραγωγής του αγελαδινού γάλακτος. Σύμφωνα με τα στοιχεία της Eurostat (2014), ανάμεσα στις χώρες της Ευρώπης, το μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής αγελαδινού γάλακτος κατέχει η Γερμανία με 31,4 εκατομμύρια τη και τη δεύτερη θέση η Γαλλία με 25,3 εκατομμύρια τη, ενώ η Ελλάδα κατέχει την 24^η θέση, με 614,6 χιλιάδες τη.



Εικόνα 1. Δεκα μεγαλύτεροι παραγωγοί αγελαδινού γάλακτος παγκοσμίως το 2013³(Αριστερά), και τέσσερις μεγαλύτεροι παραγωγοί πρόβειου γάλακτος στην Ε.Ε. το 2014⁴ (Δεξιά)

Σε ότι αφορά στην παραγωγή γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα, στην ελληνική αγορά το μεγαλύτερο ποσοστό πρώτης ύλης αγελαδινού γάλακτος που χρησιμοποιείται δεν είναι ελληνικής προέλευσης, διότι η εγχώρια παραγωγή δεν επαρκεί για να καλύψει τις ανάγκες για κατανάλωση. Αντίθετα, αναφορικά με την παραγωγή πρόβειου γάλακτος (**Εικόνα 1**), η Ελλάδα κατέχει τη 2^η θέση, με παραγωγή 540,4 χιλιάδων τη, μετά από την Ισπανία, η οποία την περίοδο 2013-2014

³FAO: Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Milk Facts, 2013

⁴ Eurostat, Milk collection (all milks) and dairy products obtained- annual report, 2014

αύξησε την παραγωγή σε πρόβειο γάλα σχεδόν κατά 200%, φτάνοντας τους 748,2 χιλιάδες tn (Eurostat 2014).

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί η ανάγκη των καταναλωτών αλλά και των παραγωγών για τρόφιμα, τα οποία να είναι ελάχιστα επεξεργασμένα και να παρουσιάζουν βελτιωμένα ποιοτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Στην περίπτωση του άπαχου γιαουρτιού ή γιαουρτιού χαμηλών λιπαρών, σημαντικά προβλήματα παρουσιάζονται κατά την επίτευξη σταθερής δομής και επιθυμητής υφής. Οι διαθέσιμες διαδικασίες για την βελτίωση της υφής, και άρα τη δημιουργία προϊόντων με σταθερή δομή κατά την αποθήκευση, περιλαμβάνουν την αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου του γάλακτος, η οποία αποτελεί μια ιδιαίτερα ακριβή μέθοδο, ή/και τη χρήση σταθεροποιητικών μέσων, τα οποία ενδέχεται να επιφέρουν ανεπιθύμητο άρωμα ή/και γεύση στο τελικό προϊόν, ενώ παράλληλα αποκλίνουν από τον όρο «καθαρή ετικέτα». Έτσι, έχει δημιουργηθεί η ανάγκη για εναλλακτικές τεχνολογίες που στοχεύουν στην βελτίωση της υφής, αλλά και άλλων ποιοτικών χαρακτηριστικών, και στην παραγωγή προϊόντων που είναι αποδεκτά από το καταναλωτικό κοινό, ενώ ταυτόχρονα θα παρουσιάζουν και χαμηλό κόστος παραγωγής. Τέτοιες τεχνολογίες αποτελούν η ενζυμική επεξεργασία και η επεξεργασία του γάλακτος με υπερυψηλή πίεση, για τις οποίες υπάρχουν αρκετά δεδομένα που σχετίζονται με την επίδρασή τους στη διαμόρφωση σταθερών πρωτεϊνικών δικτύων, και επομένως με τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών όξινων πηγμάτων, συμπεριλαμβανομένων της υφής και της ικανότητάς τους για συγκράτηση του ορού.

Τις τελευταίες δεκαετίες, οι άνθρωποι συσχετίζουν ολοένα και περισσότερο την κατανάλωση διαφόρων τροφίμων με την ενίσχυση της υγείας τους. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένου του γιαουρτιού, περιέχουν βιο-λειτουργικά πεπτίδια, τα οποία απελευθερώνονται μέσω ενζυμικών αντιδράσεων κατά την πέψη και φαίνεται να ενισχύουν την καλή λειτουργία του καρδιαγγειακού, γαστρεντερικού και ανοσολογικού συστήματος του ανθρώπινου οργανισμού. Ανάμεσα στα βιο-λειτουργικά πεπτίδια, σε προϊόντα όπως το γιαούρτι, έχουν αναγνωριστεί τα αντι-υπερτασικά, τα ανοσορυθμιστικά, τα αντιοξειδωτικά και τα αντιμικροβιακά πεπτίδια. Έτσι, αντικείμενο μελέτης της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε και η μελέτη των αντι-υπερτασικών ιδιοτήτων των παραγόμενων δειγμάτων γιαουρτιού.

Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες για την επίδραση των τεχνολογιών αυτών στο αγελαδινό γάλα, ωστόσο υπάρχει ένα κενό, όσον αφορά στην εφαρμογή τους στο πρόβειο γάλα, αλλά και στον τρόπο με τον οποίο επιδρούν στην δράση των βιο-λειτουργικών πεπτιδίων στο τελικό όξινο πήγμα. Οπότε, οι πρωταρχικοί στόχοι της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας, είναι η εφαρμογή των εναλλακτικών αυτών τεχνολογιών, μεμονωμένα ή συνδυαστικά, στην παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού τύπου σεντ από γάλα αγελαδινής και πρόβειας προέλευσης, και η επίδραση τους στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των τελικών όξινων πηγμάτων, αλλά και στις αντι-υπερτασικές ιδιότητες που παρουσιάζουν.

1.ΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα περιλαμβάνουν μία μεγάλη ποικιλία τροφίμων, στην οποία περιλαμβάνονται το γάλα, το γιαούρτι και τα παραγόμενα από αυτό επιδόρπια, το τυρί, οι σκόνες γάλακτος, το βούτυρο και το παγωτό. Πρόκειται για προϊόντα που καταναλώνονται στην πλειοψηφία τους από τα πρώτα στάδια της παιδικής ηλικίας σχεδόν καθημερινά, λόγω της υψηλής θρεπτικής τους αξίας, αφού αποτελούν πηγές πρωτεϊνών, ασβεστίου και βιταμινών.

1.2 ΤΟ ΓΑΛΑ

Ο Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (2009), χαρακτηρίζει το γάλα ως το προϊόν που είναι απαλλαγμένο από το πρωτόγαλα και είναι αποτέλεσμα του ολοσχερούς, χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης. Με τον όρο «γάλα», νοείται αποκλειστικά το γάλα που προέρχεται από αγελάδα, είναι νωπό και πλήρες, δεν έχει υποστεί αφυδάτωση και τέλος, δεν περιέχει άλλες ύλες που έχουν προστεθεί από έξω.

Ανάλογα με την πηγή προέλευσης του, το γάλα μπορεί να χαρακτηριστεί ως κατσίκας, προβάτου, βούβαλου ή ανάμικτο προβάτου-κατσίκας, με αναλογία 1:1. Για καθένα από τα παραπάνω είδη, έχουν καθοριστεί τα απαιτούμενα όρια των φυσικών και χημικών σταθερών τους, όπως αυτά περιγράφονται στον **Πίνακα 1.1**.

Πίνακας 1. 1 Όρια φυσικών και χημικών σταθερών του γάλακτος ανάλογα με την προέλευση

ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ	ΕΙΔΙΚΟ ΒΑΡΟΣ 15°C	ΛΙΠΟΣ% (ΕΛΑΧΙΣΤΟ)	Σ.Υ.Α.Λ. %*(ΕΛΑΧΙΣΤΟ)
<i>Αγελάδας</i>	1,028	3,5	8,5
<i>Κατσίκας</i>	1,032	4,0	9,0
<i>Προβάτου</i>	1,035	6,0	10,2
<i>Βουβάλου</i>	1,033	6,0	9,7
<i>Ανάμεικτο Κατσίκας- Προβάτου</i>	1,033	5,0	9,6

*Σ.Υ.Α.Λ.: Στερεό Υπόλειμμα Άνευ Λίπους

Για να είναι κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση, το νωπό γάλα πρέπει να υποστεί θερμική επεξεργασία. Υπάρχουν τρεις κατηγορίες θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος έτοιμου προς κατανάλωση:

1. Παστεριωμένο Γάλα

Το γάλα πρέπει να υποβληθεί σε επεξεργασία που περιλαμβάνει την έκθεση του σε υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα (τουλάχιστον 71,7°C για 15 s) ή σε διαδικασία παστερίωσης που χρησιμοποιεί διαφορετικούς συνδυασμούς χρόνου και θερμοκρασίας για την επίτευξη ισοδύναμου αποτελέσματος. Θα πρέπει, επίσης, να παρουσιάζει αρνητική αντίδραση στη δοκιμασία φωσφατάσης και θετική αντίδραση στη δοκιμασία υπεροξειδάσης, και να ψύχεται το συντομότερο δυνατόν, σε θερμοκρασία που δεν υπερβαίνει τους 6°C.

2. Γάλα Υπερυψηλής Παστερίωσης (Ultra High Temperature, UHT)

Το γάλα UHT παράγεται από συνεχή θέρμανση του νωπού γάλακτος που συνεπάγεται τη βραχυχρόνια εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας (τουλάχιστον 135°C για 1 s) με σκοπό την καταστροφή όλων των υπολειπόμενων μικροοργανισμών και των σπορίων τους, και συσκευάζεται, υπό ασηπτικές συνθήκες, σε αδιαφανή δοχεία, ώστε να μην ανιχνεύεται δειγματοληπτικά καμία αλλοίωση σε κλειστή συσκευασία για διάρκεια 15 ημερών και σε θερμοκρασία 30°C.

3. Αποστειρωμένο Γάλα

Το γάλα θερμαίνεται και αποστειρώνεται σε ερμητικά κλειστές συσκευασίες ή δοχεία, των οποίων το σύστημα κλεισίματος πρέπει να παραμείνει άθικτο και θα πρέπει να είναι σε θέση να διατηρείται και να μην παρουσιάζει καμία αισθητή αλλοίωση, για διάστημα 15 ημερών στους 30°C.

Το γάλα κατηγοριοποιείται ανάλογα και με το περιεχόμενό του σε λιπαρές ύλες. Έτσι, το γάλα μπορεί να χαρακτηριστεί ως αποβουτυρωμένο, όταν οι λιπαρές ουσίες είναι μικρότερες του 0,5%, και δεν περιέχει καμία προσθήκη. Ως ημι-αποβουτυρωμένο γάλα χαρακτηρίζεται αυτό, στο

οποίο πραγματοποιείται μερική αφαίρεση του λίπους και οι λιπαρές ουσίες κυμαίνονται από 1,5-1,8%, ενώ το γάλα μερικώς αποβουτυρωμένο, Λίπος...(%), χαρακτηρίζεται αυτό που περιέχει λιπαρές ουσίες σε ποσοστό από 1,8-3,5%. Η τροποποίηση της φυσικής περιεκτικότητας του γάλακτος σε λιπαρή ουσία πραγματοποιείται μόνο με αφαίρεση ή προσθήκη κρέμας ή με προσθήκη πλήρους γάλακτος, ημι-αποβουτυρωμένου ή αποκορυφωμένου γάλακτος για να τηρηθούν οι περιεκτικότητες σε λιπαρή ουσία που καθορίζονται για το γάλα κατανάλωσης.

Τέλος, το γάλα κατανάλωσης πρέπει να περιέχει ποσοστό τουλάχιστο 2,9% πρωτεϊνικών ουσιών, για ποσοστό 3,5% λιπαρής ουσίας ή ισοδύναμη συγκέντρωση για γάλα διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρή ουσία. Σε περίπτωση εμπλουτισμού με πρωτεΐνες, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του εμπλουτισμένου γάλακτος πρέπει να είναι μεγαλύτερη ή ίση με 3,8% (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών 2009).

1.3 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η σύσταση του γάλακτος ποικίλει σε σημαντικό βαθμό ανάλογα με την πηγή προέλευσής του. Σε όλες τις περιπτώσεις αποτελείται κυρίως από νερό, ενώ άλλα κύρια συστατικά είναι οι πρωτεΐνες, τα λιπαρά, η λακτόζη (σάκχαρο γάλακτος) και ανόργανη ύλη. Το γάλα περιέχει σε ίχνη και άλλα συστατικά, όπως χρωστικές, ένζυμα, βιταμίνες, φωσφολιπίδια και αέρια. Στον **Πίνακα 1.2** (Bylund 1995) παρουσιάζονται το εύρος της % κ.β. σύστασης των διαφόρων συστατικών του αγελαδινού γάλακτος.

Πίνακας 1. 2 Σύσταση του αγελαδινού γάλακτος

ΚΥΡΙΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΕΥΡΟΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ
<i>Νερό</i>	85,5-89,5	87,5
<i>Ολικά Στερεά</i>	10,5-14,5	13,0
<i>Λίπος</i>	2,5-6,0	3,9
<i>Πρωτεΐνες</i>	2,9-5,0	3,4
<i>Λακτόζη</i>	3,6-5,5	4,8
<i>Ανόργανη ύλη</i>	0,6-0,9	0,8

1.3.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες αποτελούν ένα σημαντικό κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής. Είναι μεγάλα μόρια το οποία αποτελούνται από 100-200 μικρότερες μονάδες, τα αμινοξέα. Η φύση της κάθε πρωτεΐνης καθορίζεται από το είδος και την θέση των αμινοξέων στο πρωτεϊνικό μόριο.

Το γάλα περιέχει πολλές και διαφορετικές πρωτεΐνες, οι περισσότερες από τις οποίες απαντώνται σε μικρές ποσότητες. Οι πρωτεΐνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με πολλούς τρόπους, ανάλογα με τις χημικές και τις φυσικές ιδιότητες είτε με τις βιολογικές τους δράσεις. Παλιότερα, υπήρχαν τρεις κατηγορίες πρωτεϊνών, οι καζεΐνες, οι γαλακτοαλβουμίνες και γαλακτογλοβουλίνες, αλλά πλέον χρησιμοποιείται ένα καταλληλότερο σύστημα κατηγοριοποίησης. Σήμερα, οι πρωτεΐνες του γάλακτος χωρίζονται σε πρωτεΐνες ορού, καζεΐνες και λιποπρωτεΐνες. Στον **Πίνακα 1.3** παρουσιάζονται οι κύριες πρωτεΐνες του γάλακτος, καθώς και η συγκέντρωσή τους στο νωπό αγελαδινό γάλα (Bylund 1995).

Πίνακας 1.3 Συγκέντρωση πρωτεϊνών στο νωπό αγελαδινό γάλα

ΠΡΩΤΕΪΝΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΤΟ ΓΑΛΑ (g/kg)	ΠΡΩΤΕΪΝΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΤΟ ΓΑΛΑ (g/kg)
<i>Πρωτεΐνες Ορού</i>		<i>Καζεΐνες</i>	
<i>α-γαλακτοαλβουμίνη</i>	1,2	<i>α_{s1}-καζεΐνη</i>	10,0
<i>β-γαλακτογλοβουλίνη</i>	3,2	<i>α_{s2}-καζεΐνη</i>	2,6
<i>Αλβουμίνη ορού</i>	0,4	<i>β-καζεΐνη</i>	10,1
<i>Ανοσοσφαιρίνες</i>	0,7	<i>κ-καζεΐνη</i>	3,3
<i>Πρωτεόζη-Πεπτόνη</i>	0,8	<i>Λιποπρωτεΐνες</i>	0,4
<i>Συνολική Συγκέντρωση Πρωτεϊνών</i>			32,7

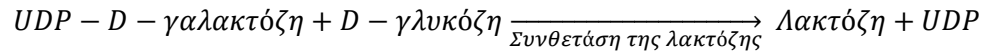
1.3.1.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΟΡΟΥ

Οι πρωτεΐνες ορού αποτελούν το 20% των πρωτεϊνών του αγελαδινού γάλακτος και παραμένουν διαλυτές σε pH 4,6. Γενικά οι πρωτεΐνες ορού, και συγκεκριμένα η α-γαλακτοαλβουμίνη, έχουν μεγάλη διατροφική αξία, διότι η σύνθεση των αμινοξέων τους είναι πολύ κοντά σ' αυτό που θεωρείται βιολογικά βέλτιστο. Οι πρωτεΐνες ορού χρησιμοποιούνται σε πολύ μεγάλο βαθμό στην βιομηχανία τροφίμων και ανάμεσα στις πιο κύριες (εκτός από την α-γαλακτοαλβουμίνη) συγκαταλέγονται η β-γαλακτογλοβουλίνη, η αλβουμίνη ορού, οι ανοσοσφαιρίνες και η πεπτόνη πρωτεόζης. Παρακάτω αναλύονται τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών ορού.

α-Γαλακτοαλβουμίνη

Η α-γαλακτοαλβουμίνη (α-La) αποτελεί περίπου το 20% των πρωτεϊνών στον ορό του αγελαδινού γάλακτος (3,5% της συνολικής πρωτεΐνης) και είναι η βασική πρωτεΐνη στο ανθρώπινο γάλα. Το μόριο της αποτελείται από 123 αμινοξέα και το μοριακό της βάρος υπολογίζεται στα 14 kDa. Το μόριο περιλαμβάνει 4 δισουλφιδικούς δεσμούς και δεν περιέχει καμία φωσφορική ομάδα. Η α-La παίζει βασικό ρόλο στη σύνθεση της λακτόζης, διότι αποτελεί τη Β υποομάδα του ενζύμου συνθετάση της λακτόζης, ενώ η Α υποομάδα αποτελείται από τη μη επιλεκτική UDP

γαλακτοτρασνφεράση. Η συνθετάση της λακτόζης καταλύει το τελικό στάδιο για την βιοσύνθεση της λακτόζης, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:



Η δράση της α-La αντιπροσωπεύει ένα μοναδικό τρόπο ελέγχου των μορίων κατά τις βιολογικές αντιδράσεις. Η συγκέντρωση της λακτόζης στο γάλα συνδέεται άρρηκτα με τη συγκέντρωση της α-La (O'Mahony et al. 2013a, Belitz et al. 2009).

β- Γαλακτογλοβουλίνη

Η β-γαλακτογλοβουλίνη (β-Lg) είναι η κύρια πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος, ενώ αποτελεί πάνω από το 50% των πρωτεϊνών ορού και το 12% της συνολικής πρωτεΐνης στο γάλα. Ήταν από τις πρώτες πρωτεΐνες του γάλακτος που χαρακτηρίστηκαν κι γι' αυτό το λόγο έχει μελετηθεί εκτενώς. Πέρα από το αγελαδινό γάλα, είναι η κύρια πρωτεΐνη στο γάλα βουβάλου, στο πρόβειο και στο γίδινο, με μικρές διαφορές στη συγκέντρωση στο κάθε είδος. Υπάρχουν 4 διαφορετικές γενετικές παραλλαγές της αγελαδινής β-Lg κι αυτές είναι Α, Β, C και D, ενώ γενετικός πολυμορφισμός παρατηρείται και στο πρόβειο και κατσικίσιο γάλα (O' Mahony et al. 2013a). Η αγελαδινή β-Lg αποτελείται από 162 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος περίπου 18,3 kDa. Το μόριο της αποτελείται από δύο δισουλφιδικούς δεσμούς και μια θειούχα ομάδα, ενώ δεν περιέχει καθόλου φώσφορο (Sawyer 2003).

Όπως όλες οι πρωτεΐνες έτσι και οι β-Lg έχει ένα βιολογικό ρόλο, καθώς φαίνεται να δρα ως φορέας της ρετινόλης (βιταμίνη Α). Η β-Lg δεσμεύει τη ρετινόλη, την προστατεύει από την οξείδωση και τη μεταφέρει από το στομάχι στο λεπτό έντερο, όπου μετατρέπεται σε πρωτεΐνη με δομή παρεμφερή της β- Lg. Επίσης, η β-Lg, μέσω της ικανότητας της να δεσμεύει τα λιπαρά οξέα, διεγείρει τη δραστηριότητα της λιπάσης. Τέλος, η β-Lg είναι από τις πιο αλλεργιογόνες πρωτεΐνες στο αγελαδινό γάλα για τα μικρά παιδιά (El-Agamy 2007), λόγω του γεγονότος ότι η συγκεκριμένη πρωτεΐνη απουσιάζει από το ανθρώπινο γάλα.

Αλβουμίνη Ορού

Η αλβουμίνη ορού είναι πανομοιότυπη με το μόριο της πρωτεΐνης του ορού αίματος. Αποτελείται από 583 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 66 kDa. Το μόριο περιέχει 17 δισουλφίδια και μία σουλφιδική ομάδα, ενώ δεν περιέχει φώσφορο. Δεν έχει πολύ σημαντικό βιολογικό ρόλο στο γάλα, όπως η α-La ή η β-Lg (O'Mahony et al. 2013a).

Ανοσοσφαιρίνες

Οι ανοσοσφαιρίνες αποτελούν το 2% των συνολικών πρωτεϊνών του γάλακτος. Υπάρχουν τρεις τάξεις ανοσοσφαιρινών στο γάλα: IgA, IgG (με τις υποκατηγορίες IgG1 και IgG2) και IgM. Η IgG αποτελείται από δύο μεγάλες αλυσίδες και δύο μικρές πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Το ίδιο ισχύει για

την IgA και IgM. Οι ανοσοσφαιρίνες έχουν πολύ σημαντική βιολογική δράση αφού είναι υπεύθυνες για να προσφέρουν ανοσία στο νεογνό (Hurley 2003).

Πεπτόνη Πρωτεΐνης

Το είδος της πεπτόνης πρωτεΐνης (PP) που απαντάται στο γάλα είναι η PP3, η οποία βρίσκεται στον ορό του γάλακτος και περιέχει περίπου 17% υδατάνθρακες και έχει μοριακό βάρος 20 kDa (O'Mahony et al. 2013a). Η PP3 έχει κάποιες ενδιαφέρουσες λειτουργικές ιδιότητες, όπως το ότι παραμένει διαλυμένη ακόμη και μετά από θέρμανση του γάλακτος στους 95°C για 20 min και οξίνιση σε τιμή pH 4,7 με τριχλωρο-οξικό οξύ (Swaisgood 1982).

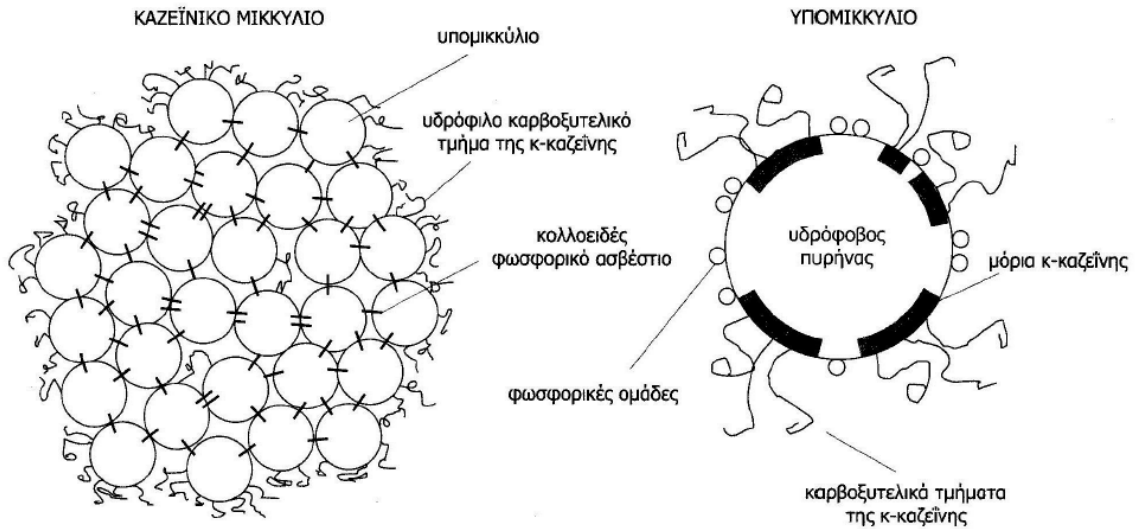
1.3.1.2 ΚΑΖΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΚΑΖΕΪΝΙΚΑ ΜΙΚΥΛΛΙΑ

Οι καζεΐνες (CN) είναι φωσφοροπρωτεΐνες. Υπάρχουν τέσσερα βασικά κλάσματα καζεΐνης: οι α_{s1} -, α_{s2} -, β - και κ - καζεΐνες ενώ επίσης έχουν παρατηρηθεί και οι γ - και λ -καζεΐνες που είναι προϊόντα διάσπασης των β - και α_{s1} -καζεϊνών, αντίστοιχα. Κάποια βασικά χαρακτηριστικά των καζεϊνών στο γάλα φαίνονται στον **Πίνακα 1.4**.

Πίνακας 1. 4 Καζεΐνες αγελαδινού γάλακτος (Belitz et al. 2009)

ΕΙΔΟΣ ΚΑΖΕΪΝΗΣ	% ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ (kDa)
α_{s1} -καζεΐνη	34	23,6
α_{s2} - καζεΐνη	8	25,2
β - καζεΐνη	25	24,0
κ - καζεΐνη	9	19,0
γ - καζεΐνη	4	12,0-21,0

Το μεγαλύτερο ποσοστό των καζεϊνών βρίσκεται στο γάλα με τη μορφή συμπλόκων ή μικυλλίων (καζεϊνικά μικύλλια), δηλαδή ως μια κολλοειδή μάζα (συσσωμάτωμα) σωματιδίων τυπικού μεγέθους 150 nm. Οι καζεΐνες είναι σχετικά μικρές πρωτεΐνες οι οποίες είναι πολύ επιφανοδραστικές λόγω της δομής τους. Κάθε μικύλλιο αποτελείται από περίπου 25000 μονομερή μόρια καζεϊνών που συγκρατούνται μεταξύ τους με δεσμούς φωσφόρου-ασβεστίου και με υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις. Έχουν προταθεί διάφορα μοντέλα για τη δομή των καζεϊνικών μικυλλίων, ένα όμως είναι το επικρατέστερο, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 1.1**. Σύμφωνα με αυτό, κάθε μικύλλιο αποτελείται από υπομονάδες, τα υπομικύλλια, τα οποία αποτελούνται από περίπου 30 μονομερή και ενώνονται μεταξύ τους με γέφυρες φωσφορικού ασβεστίου. Λόγω υδροφοβικών αλληλεπιδάσεων, τα υπομικύλλια εμφανίζουν έναν εσωτερικό υδρόφοβο και έναν εξωτερικό υδρόφιλο φλοιό. Το σύστημα του μικυλλίου είναι αρκετά ανθεκτικό στη θερμική μετουσίωση, ωστόσο μπορεί να αποσταθεροποιηθεί με τη χρήση πυτιάς, ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες, ή με οξίνιση (Belitz et al. 2009, O'Mahony et al. 2013a).



Εικόνα 1. 1 Δομή καζεϊνικού μικκυλίου (Waalstra, Wouters & Geurts 2006)

1.3.1.3 ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Πρόκειται για τις πρωτεΐνες που σχηματίζουν ένα προστατευτικό μανδύα γύρω από τα λιπιδόσφαιρίδια για να σταθεροποιήσουν τα γαλακτώματα, και περιέχουν υπολείμματα λίπους. Τα λιπίδια και τα αμινοξέα των πρωτεϊνών αυτών στρέφουν το υδρόφοβο τμήμα των πρωτεϊνών αυτών προς την επιφάνεια του λιπιδόσφαιριδίου, ενώ το λιγότερο υδρόφοβο τμήμα στρέφεται προς την υδατική φάση (Bylund 1995).

1.3.1.4 ΛΑΚΤΟΦΕΡΡΙΝΗ

Η συγκέντρωση της λακτοφερρίνης ποικίλει ανάλογα με το είδος και βρίσκεται σε πολύ χαμηλά ποσοστά στο αγελαδινό γάλα ενώ σε πολύ υψηλότερα στο μητρικό γάλα. Τα είδη που έχουν χαμηλή συγκέντρωση σε λακτοφερρίνη, έχουν υψηλή συγκέντρωση τρανσφερίνης. Η λακτοφερρίνη αποτελείται από μια αλυσίδα αι το μοριακό της βάρος υπολογίζεται σε 80 kDa. Το μόριό της περιέχει ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς, ενώ δεν περιλαμβάνει ελεύθερες θεικές ομάδες.

Η λακτοφερρίνη γλυκοζυλιώνεται σε δύο διακριτά σημεία. Η λακτοφερρίνη παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στη δέσμευση του σιδήρου και άλλων μετάλλων όπως ο χαλκός, το χρώμιο, το μαγγάνιο και το αλουμίνιο σε βιολογικά συστήματα και να τα μεταφέρει στον οργανισμό, ενώ παράλληλα λειτουργεί ανασταλτικά στις οξειδωτικές ιδιότητες του σιδήρου (Lönnedal & Suzuki 2013).

1.3.2 ΛΙΠΑΡΑ

Τα λιπαρά του γάλακτος απαντώνται με τη μορφή μικρών σφαιριδίων ή σταγονιδίων διασκορπισμένων στον ορό του γάλακτος. Η διάμετρος τους κυμαίνεται από 0,1-20 μm, με μέση διάμετρο από 3-4 μm και υπάρχουν γύρω στα 15 δισεκατομμύρια σφαιρίδια ανά mL γάλακτος. Αποτελούνται από τριγλυκερίδια, δι- και μονογλυκερίδια, λιπαρά οξέα, στερόλες, καροτενοειδή (προσδίδει το χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα στα λιπαρά), βιταμίνες (A, D, E και K) και άλλα ιχνοστοιχεία.

Η μεμβράνη των λιπαρών αποτελείται από φωσφολιπίδια, λιποπρωτεΐνες, κερεβροζίδια, πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα, ένζυμα, μεταλλικά ιχνοστοιχεία και δεσμευμένο νερό. Η συγκέντρωση και το πάχος της μεμβράνης δεν είναι σταθερά, διότι τα συστατικά από τα οποία αποτελείται ανταλλάσσονται συνεχώς με τον ορό του γάλακτος. Τα λιπαρά είναι τα μεγαλύτερα σωματίδια που υπάρχουν στο γάλα αλλά και τα πιο ελαφριά (πυκνότητα στους 15°C = 0,93 g/cm³), αφού τείνουν να ανεβαίνουν στην επιφάνεια αν αφηθεί το γάλα σε ηρεμία.

Όλα τα λιπαρά του γάλακτος αποτελούν ένα μίγμα από εστέρες των λιπαρών οξέων, που ονομάζονται τριγλυκερίδια, μια αλκοόλη που ονομάζεται γλυκερόλη και διάφορα λιπαρά οξέα, τα οποία διαμορφώνουν περίπου το 90% των λιπαρών του γάλακτος. Τα λιπαρά οξέα μπορεί να είναι κορεσμένα ή ακόρεστα (τουλάχιστον ένα διπλό δεσμό μεταξύ ανθράκων), και δεδομένου ότι ένα μόριο γλυκερόλης μπορεί να ενωθεί με τουλάχιστο τρία μόρια (όχι απαραίτητα όμοιων λιπαρών οξέων), ο αριθμός των διαφορετικών σχηματιζόμενων τριγλυκεριδίων είναι αρκετά μεγάλος (Bylund 1995). Στον **Πίνακα 1.5** παρουσιάζονται τα σημαντικότερα κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στα τριγλυκερίδια των λιπαρών του γάλακτος.

Πίνακας 1. 5 Περιεκτικότητα του γάλακτος σε λιπαρά οξέα

ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ	%ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΟΥ ΟΛΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ	ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ	% ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΟΥ ΟΛΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ
Κορεσμένα		<i>Παλμιτικό Οξύ</i>	25,0-29,0
<i>Βουτυρικό Οξύ</i>	3,0-4,5	<i>Στεατικό Οξύ</i>	3,0-7,0
<i>Καπρονικό Οξύ</i>	1,3-2,2	Ακόρεστα	
<i>Καπρυλικό Οξύ</i>	0,8-2,5	<i>Ελαϊκό Οξύ</i>	30,0-40,0
<i>Καπρικό Οξύ</i>	1,8-3,8	<i>Λινολεϊκό Οξύ</i>	2,0-3,0
<i>Λαυρικό Οξύ</i>	2,0-5,0	<i>Λινολενικό Οξύ</i>	Έως 1,0
<i>Μυριστικό Οξύ</i>	7,0-11,0	<i>Αραχιδονικό Οξύ</i>	Έως 1,0

1.3.3 ΛΑΚΤΟΖΗ

Η λακτόζη αποτελεί ένα σάκχαρο που βρίσκεται στο γάλα και ανήκει στη κατηγορία των υδατανθράκων, οι οποίοι αποτελούν την βασικότερη πηγή ενέργειας για τον άνθρωπο. Ανήκει στην υποκατηγορία των δισακχαριτών και αποτελείται από τους μονοσακχαρίτες γλυκόζη και γαλακτόζη. Η λακτόζη απαντάται στο γάλα σε ποσοστό από 3,5% έως 5,5% και δεν είναι τόσο γλυκιά όπως τα άλλα σάκχαρα (περίπου 30 φορές χαμηλότερη γλυκύτητα από αυτή της σακχαρόζης).

Η λακτόζη αποτελεί το κύριο συστατικό του γάλακτος που επηρεάζεται από δράση των γαλακτικών βακτηρίων, και συγκεκριμένα του ενζύμου της λακτάσης, η οποία προκαλεί τον μεταβολισμό της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Στη συνέχεια, άλλα ένζυμα από τα γαλακτικά βακτήρια μετατρέπουν τη γλυκόζη και τη γαλακτόζη σε γαλακτικό οξύ, το οποίο είναι υπεύθυνο για την χαρακτηριστική όξινη γεύση του γάλακτος (Bylund 1995, Fox 1997).

1.3.4 ENZYMA

Τα ένζυμα είναι ένας είδος πρωτεϊνών που παράγονται από τους ζώντες οργανισμούς με σκοπό την κατάλυση συγκεκριμένων αντιδράσεων. Επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τις μεταβολές του pH και της θερμοκρασίας. Στο γάλα, τα ένζυμα προέρχονται είτε από το μαστό του ζώου είτε προέρχονται από βακτήρια. Τα πρώτα αποτελούν τον βασικό πληθυσμό των ενζύμων στο γάλα και αποτελούν τα *ενδογενή ένζυμα*, ενώ τα *βακτηριακά ένζυμα* εξαρτώνται από τον πληθυσμό των βακτηρίων στο γάλα (Bylund 1995).

Κάποια από τα ένζυμα του γάλακτος χρησιμοποιούνται για ανάλυση με σκοπό τον εντοπισμό του γάλακτος που έχει υποστεί θερμική επεξεργασία, ενώ ο ρυθμός αδρανοποίησης των ενζύμων υποδεικνύει το είδος και την έκταση της θέρμανσης όπως η υπεροξειδάση, η καταλάση και η φωσφατάση, ενώ κάποια άλλα αποτελούν δείκτη ποιότητας του γάλακτος, όπως οι λιπάση των λιποπρωτεϊνών και η οξειδάση της ξανθίνης (αλδεϋδοδεϋδρογονάση). Στη συνέχεια αναφέρονται τα κυριότερα χαρακτηριστικά τους:

Υπεροξειδάση (Lactoperoxidase, LPO)

Η LPO συντίθεται στους μαστικούς αδένες (Cals et al. 1991) και υπάρχει σε μεγάλη αφθονία στο γάλα (~0,5% των ολικών πρωτεϊνών ορού, ~0,1% της ολικής πρωτεΐνης) (O' Mahony et al. 2013b). Το ένζυμο αυτό μεταφέρει οξυγόνο από το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε άλλες οξειδωσιμες ενώσεις. Η LPO αδρανοποιείται κατά τη θέρμανση του γάλακτος στους 80°C για μερικά δευτερόλεπτα, γεγονός το οποίο βρίσκει εφαρμογή κατά τον έλεγχο της παστερίωσης του γάλακτος, διότι η παρουσία ή απουσία του ενζύμου χρησιμοποιείται ως ένδειξη για το εάν η θερμοκρασία παστερίωσης έφθασε τους 80°C. Το τεστ αυτό ονομάζεται τεστ υπεροξειδάσης του Storch (Bylund 1995).

Καταλάση

Η καταλάση διασπά το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε νερό και ελεύθερο οξυγόνο. Η ποσότητα της καταλάσης στο γάλα προσδιορίζεται μετρώντας μανομετρικά την αύξηση του οξυγόνου ή τη μείωση του υπεροξειδίου (O' Mahony et al. 2013b). Το ένζυμο αυτό αποτελεί δείκτη της υγείας των μαστών του θηλαστικού, αφού το γάλα που προέρχεται από νοσούντα ζώα έχει υψηλό περιεχόμενο σε καταλάση, ενώ αυτό που προέρχεται από υγιή ζώα περιέχει ασήμαντες ποσότητες του εν λόγω ενζύμου. Η καταλάση απενεργοποιείται μετά από θέρμανση στους 75°C για 60 s (Bylund 1995).

Φωσφατάση (Phosphatase)

Ο ρόλος της φωσφατάσης είναι να διασπά τους εστέρες του φωσφορικού οξέος σε φωσφορικό οξύ και τις αντίστοιχες αλκοόλες. Το ένζυμο αυτό μπορεί να ανιχνευτεί με την προσθήκη ενός εστέρα του φωσφορικού οξέος και ενός αντιδραστηρίου που οδηγεί σε αλλαγή του χρώματος αντιδρώντας με την αλκοόλη που απελευθερώνεται. Η αλλαγή του χρώματος αποδεικνύει την παρουσία φωσφατάσης. Η φωσφατάση καταστρέφεται κατά την συνήθη παστερίωση του γάλακτος (72°C για 15-20 s), επομένως το τεστ της φωσφατάσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιβεβαίωση ότι επιτεύχθηκε η επιθυμητή θερμοκρασία κατά την παστερίωση. Αυτό το τεστ, που χρησιμοποιείται στα γαλακτοκομικά προϊόντα, κατά προτίμηση την ημέρα παραγωγής τους, ονομάζεται τεστ φωσφατάσης κατά Scharer (Bylund 1995).

Λιπάση (Lipoprotein Lipase, LPL)

Η LPL διασπά το λίπος σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα. Η περίσσεια ελεύθερων λιπαρών οξέων στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα οδηγεί σε ταγγή γεύση. Η δράση του ενζύμου αυτού φαίνεται, στις περισσότερες περιπτώσεις, να είναι αδύναμη, αν και το γάλα ορισμένων ζώων χαρακτηρίζεται από έντονη δραστηριότητα LPL. Η ποσότητα της LPL στο γάλα πιστεύεται ότι αυξάνει προς το τέλος του γαλακτοπαραγωγικού κύκλου. Η LPL μπορεί να απενεργοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό κατά την παστερίωση του γάλακτος, αλλά για την ολική απενεργοποίησή της απαιτούνται πολύ υψηλές θερμοκρασίες (Bylund 1995, Fox & McSweeney 1998).

Οξειδάση της Ξανθίνης (Xanthine Oxidase, XO)

Οι Silanikove & Shapiro (2007) ανέφεραν πως το 33% της δράσης της XOR στο αγελαδινό γάλα βρίσκεται εντός των λιποσφαιριδίων, το 20% στο εσωτερικό των μεμβρανών του γάλακτος και το υπόλοιπο 47% είναι «εν δυνάμει διαλυτό». Ωστόσο, μόνο η XOR που βρίσκεται στις μεμβράνες παίζει το ρόλο ενζύμου, και είναι ένδειξη της υγείας του μαστικού αδένου του θηλαστικού. Η XOR μπορεί να υπολογιστεί μανομετρικά (πρόσληψη O₂), ποτενσιομετρικά, χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο από πλατίνα ή φασματοφωτομετρικά. Η XOR παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα, α) ως δείκτης της θερμικής επεξεργασίας, μέσω της απενεργοποίησης του *M. avium* subs. *paratuberculosis*, β) ως δείκτης της οξείδωσης των λιπιδίων, γ) παρουσιάζει βακτηριοκτόνο δράση, τόσο στο ανθρώπινο έντερο, αλλά και στο μαστικό αδένου του θηλαστικού,

δ) ευθύνεται για την έκκριση των λιποσφαιριδίων από τα κύτταρα του μαστού και ε) αποτελεί δείκτη της εξέλιξης του θηλαστικού (O' Mahony et al. 2013b).

1.3.5 ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

Οι βιταμίνες αποτελούν οργανικές ενώσεις που βρίσκονται σε μικρές συγκεντρώσεις σε φυτά και ζώα και είναι απαραίτητες για τη σωστή λειτουργία του οργανισμού του ανθρώπου. Οι χημικές ενώσεις των βιταμινών είναι συνήθως πολύ πολύπλοκες, αλλά σήμερα γνωρίζουμε τις περισσότερες από αυτές. Στον **Πίνακα 1.6** παρουσιάζονται η περιεκτικότητα των βιταμινών αυτών στον νωπό αγελαδινό γάλα, και η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη βιταμινών από έναν ενήλικα.

Πίνακας 1. 6 Περιεκτικότητα του νωπού αγελαδινού γάλακτος σε βιταμίνες, συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη

ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ		ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΓΑΛΑ (ANA 100 mg)	ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΗ ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΠΡΟΣΛΗΨΗ
<i>Λιποδιαλυτές</i>			
Ρετινόλη		0,030 mg	
Καροτίνιο	A	0,018 mg	0,8-1,1 mg
Καλσιφερόλη	D	0,06 mg	5 μg
α- Τοκοφερόλη (E)	E	0,13 mg	14 mg
Φυλλοκινόνη	K	0,3 μg	60-70
<i>Υδατοδιαλυτές</i>			
Θειαμίνη	B1	0,04 mg	1,0-1,3 mg
Ριβοφλαβίνη	B2	0,18 mg	1,2-1,5 mg
Νιασίνη	B3	0,09 mg	13-16 mg
Παντοθενικό οξύ	B5	0,35 mg	6 mg
Πυριδοξάλη	B6	0,04 mg	1,2-1,6 mg
Βιοτίνη	B7	3,5 μg	30-60 μg
Φολικό οξύ	B9	6,7 μg	400 μg
Κυανοκοβαλαμίνη	B12	0,4 mg	3,0 μg
Ασκορβικό οξύ	C	1,7 mg	100 mg

Στο γάλα περιέχονται πολλές βιταμίνες, οι οποίες ταξινομούνται σε δύο γενικές κατηγορίες: α) τις λιποδιαλυτές, όπως είναι οι A, D, E, K1 και β) τις υδατοδιαλυτές, όπως είναι η B1, η B2, η νιασίνη (B3), το παντοθενικό οξύ (B5), η B6, η βιοτίνη (B7), το φολικό οξύ (B9) και η B12 και το ασκορβικό οξύ. Οι απαιτήσεις του ανθρώπινου οργανισμού σε βιταμίνες συνήθως καλύπτονται

εύκολα από μια ισορροπημένη διατροφή, ωστόσο πάντα υπάρχει ο κίνδυνος της υποβιταμίνωσης ή της υπερβιταμίνωσης. Ο βιολογικός ρόλος των βιταμινών είναι πολύ μεγάλος, αφού είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη, τη λειτουργία και τη διατήρηση του ανθρώπινου σώματος (Belitz et al. 2009).

1.3.6 ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Το γάλα περιέχει πληθώρα ανόργανων συστατικών, των οποίων η συνολική συγκέντρωση αποτελεί λιγότερο από το 1% του γάλακτος, και βρίσκονται είτε στον ορό του γάλακτος είτε στα καζεϊνικά συστατικά του. Τα σημαντικότερα από αυτά είναι το ασβέστιο, το νάτριο, το κάλιο και το μαγνήσιο και εμφανίζονται υπό μορφή φωσφορικών, χλωριούχων, κιτρικών ή καζεϊνικών αλάτων. Το κάλιο και το ασβέστιο υπάρχουν σε μεγαλύτερη αφθονία στο γάλα. Γενικά, η περιεκτικότητα των σχηματιζόμενων αλάτων δεν είναι σταθερή αλλά μεταβάλλεται ανάλογα με την γαλακτοπαραγωγική περίοδο (Bylund 1995).

1.4 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι πολύ σημαντικά στη διατροφή. Έχουν μεγάλη ενεργειακή αξία, παρέχουν πρωτεΐνες και ιχνοστοιχεία υψηλής ποιότητας, και μπορούν να λειτουργήσουν επωφελώς τόσο για διατροφικά ευάλωτα άτομα, όσο και για υγιείς ανθρώπους, όταν καταναλώνονται σε κατάλληλες ποσότητες (βλ. **Πίνακα 1.7**, FAO 2013). Η θερμιδική αξία του γάλακτος είναι περίπου 700 kcal/L, η οποία οφείλεται κατά κύριο λόγο στην παρουσία των λιπαρών στοιχείων στο γάλα. Η κατανάλωση του γάλακτος ενισχύει τη δράση της μικροχλωρίδας του εντέρου, κάτι που οφείλεται στην περιεχόμενη λακτόζη. Ωστόσο, υπάρχει μια μεγάλη ομάδα ανθρώπων που παρουσιάζει δυσπεψία ή βαριάς μορφής δυσεντερία, πάσχει από δυσανεξία στη λακτόζη, και δεν μπορεί να καταναλώσει μεγάλη ποσότητα γάλακτος ή γαλακτοκομικών προϊόντων (Waalstra, Wouters & Geurts 2006).

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος έχουν μεγάλη θρεπτική αξία, ιδιαίτερα αυτές που είναι πλούσιες σε θειούχα αμινοξέα όπως η γαλακτοαλβουμίνη και η γαλακτογλοβουλίνη. Οι πρωτεΐνες μπορούν να έχουν διάφορες διατροφικές συνέπειες, είτε πρόκειται για επιβλαβείς, όπως η αναστολή της πρωτεϊνάσης ή την προώθηση της αρτηριοσκλήρυνσης, είτε πρόκειται για ευεργετικές, όπως είναι η αντιμικροβιακή δράση. Ωστόσο, δεν έχουν τεκμηριωθεί σοβαρές αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου. Παρόμοια με παραπάνω είναι και η δράση των βιοδραστικών πεπτιδίων, αφού οι αλληλουχίες των πεπτιδίων που έχουν ταυτοποιηθεί στις πρωτεΐνες του γάλακτος, ειδικά στις καζεΐνες, παρουσιάζουν ιδιότητες οπιοειδούς και σε κάποιες περιπτώσεις προκαλούν υπνηλία. Άλλες αλληλουχίες αναστέλλουν την δράση αντι-υπερτασικών

ενζύμων (ACE), με τέτοιο τρόπο, έτσι ώστε να μειώνεται η αρτηριακή πίεση (Waalstra, Wouters & Geurts 2006).

Πίνακας 1. 7 Θρεπτική αξία του αγελαδινού γάλακτος (USDA Nutrient Database)

ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΑΝΑ 100 g					
ΕΝΕΡΓΕΙΑ 252 kJ (60 kcal)					
Υδατάνθρακες	5,26 g	Μεθειονίνη	0,075 g	Βιταμίνες	
Σάκχαρα	5,26 g	Κυστεΐνη	0,017 g	Βιταμίνη Α (ισοδ.)	46 µg
Λακτόζη	5,26 g	Φαινολοφθαλεΐνη	0,147 g	Θειαμίνη (B1)	0,044 mg
Λιπαρά	3,25 g	Τυροσίνη	0,152 g	Ριβοφλαβίνη (B2)	0,183 mg
Κορεσμένα	1,865 g	Βαλίνη	0,192 g	Βιταμίνη B12	0,45 µg
Μονοακόρεστα	0,812 g	Αργινίνη	0,075 g	Χολίνη	14,3 mg
Πολυακόρεστα	0,195 g	Ιστιδύνη	0,075 g	Βιταμίνη D	2 IU
Πρωτεΐνες	3,22 g	Αλανίνη	0,103 g	Λοιπά Συστατικά	
Τρυπτοφάνη	0,075 g	Ασπαρτικό Οξύ	0,237 g	Ασβέστιο	113 mg
Θειονίνη	0,143 g	Γλουταμινικό Οξύ	0,648 g	Μαγνήσιο	10 mg
Ισολευκίνη	0,165 g	Γλυκίνη	0,075 g	Κάλιο	32 mg
Λευκίνη	0,265 g	Προλίνη	0,342 g	Νάτριο	43 mg
Λυσίνη	0,140 g	Σερίνη	0,107 g		

*IU: International Units (1 IU= 0,025 µg)

Τα ανόργανα συστατικά του γάλακτος παίζουν επίσης πολύ σημαντικό ρόλο στη διατροφική αξία του γάλακτος. Ειδικά η φωσφατάση του ασβεστίου, η οποία είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και διατήρηση των οστών. Το ασβέστιο απορροφάται πολύ αποτελεσματικά από το έντερο, και σ' αυτό παίζει σημαντικό ρόλο τόσο η λακτόζη όσο και η βιταμίνη D (Waalstra, Wouters & Geurts 2006). Επιπρόσθετα, το γάλα αποτελεί καλή πηγή ψευδαργύρου, αλλά δεν περιέχει επαρκές σίδηρο και φυλλικό οξύ, που είναι απαραίτητο για την διατροφή παιδιών κάτω των 12 μηνών. Ωστόσο, η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων από εγκυμονούσες και από παιδιά άνω των 12 μηνών συνιστάται, αφού έρευνες έχουν δείξει ότι βοηθάει στην ανάπτυξη και την γενική υγεία του παιδιού (FAO 2013).

Στο γάλα υπάρχουν επίσης όλες σχεδόν οι υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές βιταμίνες. Η υψηλή περιεκτικότητα του γάλακτος σε βιταμίνη Α ενισχύει την αύξηση των ιστών και βοηθά στη διαμόρφωσή τους κατά την ανάπτυξη των παιδιών, ενώ παράλληλα προφυλάσσει την υγεία του δέρματος και των ματιών. Η ριβοφλαβίνη, ή αλλιώς βιταμίνη B2, συμβάλλει σημαντικά στη γρήγορη ανάπτυξη των παιδιών, ενώ σπουδαίος είναι και ο ρόλος της στη μετατροπή των τροφών σε ενέργεια. Οι βιταμίνες D και C βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα και γι' αυτό το γάλα πολλές φορές ενισχύεται για να έχει μεγαλύτερη διατροφική αξία (Waalstra, Wouters & Geurts 2006).

Παρά το γεγονός, ότι η παραγωγή του γάλακτος κυριαρχείται από ζώα, όπως η αγελάδα και ο βούβαλος, η προώθηση και η κατανάλωση γάλακτος από διαφορετικές πηγές προέλευσης μπορεί να είναι ευεργετικές. Υπάρχουν μεγάλες διαφορές στη σύνθεση των θρεπτικών συστατικών μεταξύ των γαλάτων από διαφορετικές πηγές προέλευσης (FAO 2013).

1.5 ΖΥΜΩΜΕΝΑ ΓΑΛΑΤΑ

Όλα τα είδη ζυμωμένων γαλάτων που υπάρχουν σήμερα είναι αποτέλεσμα μιας μακράς ιστορίας εξέλιξης. Η σύγχρονη βιομηχανία γάλακτος κάνει χρήση προσεκτικά επιλεγμένων καλλιεργειών εκκίνησης, και επιβάλλει αυστηρούς υγειονομικούς κανονισμούς για την παραγωγή των προϊόντων που προέρχονται από ζύμωση του γάλακτος. Σήμερα, τα ζυμωμένα γάλατα είναι πολύ δημοφιλή προϊόντα και συνεχώς, νέα προϊόντα εισέρχονται στην αγορά. Το όνομα «ζυμωμένο» γάλα προέρχεται από την καλλιέργεια εκκίνησης με την οποία εμβολιάζεται το γάλα και από τη μεταβολική δραστηριότητα της οποίας μέρος της λακτόζης του γάλακτος μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ. Κατά την ζύμωση των γαλακτοκομικών προϊόντων σχηματίζονται επίσης διοξείδιο του άνθρακα, οξικό οξύ, διακετύλιο, ακεταλδεΐδη, ακετοΐνη, 2-βουτανόνη κ.α., ουσίες οι οποίες σχετίζονται με τα αρωματικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Bylund 1995).

Τα ζυμωμένα γάλατα έχουν κατηγοριοποιηθεί σε τέσσερα διαφορετικά είδη: α) τα προϊόντα που προέρχονται από οξυγαλακτική ζύμωση, όπου επιλέγονται μεσόφιλα βακτηριακά στελέχη γαλακτικού οξέος για την καλλιέργεια εκκίνησης, β) τα προϊόντα οξυγαλακτικής ζύμωσης, όπου επιλέγονται θερμόφιλα βακτηριακά στελέχη γαλακτικού οξέος, γ) τα προϊόντα που είναι αποτέλεσμα αλκοολικής οξυγαλακτικής ζύμωσης, όπου επιλέγονται ζύμες και βακτήρια γαλακτικού οξέος και δ) τα προϊόντα που λαμβάνονται από οξυγαλακτική ζύμωση της περίπτωσης (α) ή (β), και ταυτόχρονα λαμβάνει χώρα ανάπτυξη μυκήτων.

Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν το ζυμωμένο βουτυρόγαλα, η κρέμα γάλακτος και σκανδιναβικά ζυμωμένα γάλατα, όπως το langfil, το filmjolk και το lactofil από τη Σουηδία, και το Ymet από τη Δανία. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκει το γιαούρτι, το βουλγάρικο βουτυρόγαλα και τα ζυμωμένα γάλατα με υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς. Στην τρίτη κατηγορία ανήκει το kefir και το kumiss, με προέλευση από την Ρωσία και την δυτική Ασία, ενώ στην τελευταία κατηγορία ανήκει το villi από την Φινλανδία (Waalstra, Wouters & Geurts 2006).

1.5.1 ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Σύμφωνα με το άρθρο 82 του Ελληνικού Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), «γιαούρτι (πλήρες ή, κατά περίπτωση, ημι-αποβουτυρωμένο)...(όνομα ζώου)" χαρακτηρίζεται το προϊόν, το

οποίο προκύπτει μετά από πήξη αποκλειστικά και μόνο νωπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης και προέλευσης, με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική για αυτό ζύμωση. Το γιαούρτι πρέπει να περιέχει λίπος και στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ) σε ποσοστό ανώτερο κατά 10% τουλάχιστον από τα όρια που καθορίζονται στο άρθρο 80 (παράγραφος 3) των αντίστοιχων ειδών γάλακτος, από τα οποία παρασκευάστηκε αυτό. Εκτός από τα είδη γάλακτος που περιλαμβάνονται στο άρθρο 80 (παράγραφος 3), επιτρέπεται η παρασκευή πλήρους γιαουρτιού από μίγμα ίσων μερών νωπού γάλακτος αγελάδας και βουβάλου ή προβάτου».

Το γιαούρτι είναι το πιο διαδεδομένο προϊόν ζύμωσης. Με βάση το γιαούρτι ξεκινά μια σειρά από παράγωγα προϊόντα γνωστά με την ονομασία «προϊόντα τύπου- γιαουρτιού»/«yoghurt-like products». Στην αρχή της δεκαετίας του '80 ξεκίνησε η κατηγοριοποίηση αυτών των προϊόντων, η οποία ολοκληρώθηκε το 1997. Μια γενική και συγκεντρωτική κατηγοριοποίηση των προϊόντων αυτών προτάθηκε από τους Tamime και Robinson (2007) με βάση:

- Τα νόμιμα κριτήρια (καθιερωμένα ή προτεινόμενα) που κατηγοριοποιούν ένα προϊόν βάσει της χημικής του σύστασης ή των περιεχόμενων λιπαρών (π.χ. πλήρες, ημι-αποβουτυρωμένο ή αποβουτυρωμένο).
- Τις μεθόδους παραγωγής του προϊόντος, π.χ. σετ, ανακατεμένο, στραγγιστό ή ρευστό/πόσιμο.
- Το άρωμα-γεύση (flavor), φυσικό ή φρούτων.
- Τις διεργασίες μετά την ζύμωση (π.χ. προσθήκη βιταμινών ή θερμικές κατεργασίες) (Tamime & Robinson 2007).

Ανάλογα με τη χώρα ή την περιοχή προέλευσης, το γιαούρτι παρασκευάζεται από το γάλα διαφόρων ζώων και με διάφορες μεθόδους, με αποτέλεσμα να ποικίλλει στη γεύση και τη σύσταση. Οι μορφές στις οποίες απαντάται το γιαούρτι είναι:

- **Τύπου σετ**, στο οποίο η δράση των μικροοργανισμών και η ψύξη του προϊόντος πραγματοποιείται εντός της συσκευασίας του.
- **Ανακατεμένου τύπου**, στο οποίο η επώαση και η ψύξη πραγματοποιείται πριν τη συσκευασία.
- **Συμπυκνωμένο ή στραγγιστό**, στο οποίο η επώαση πραγματοποιείται σε ζυμωτήρα, ενώ ακολουθεί συμπύκνωση και ψύξη πριν συσκευαστεί.
- **Πόσιμο**, το οποίο είναι όμοιο με το ανακατεμένου τύπου, αλλά το πήγμα σε αυτήν την περίπτωση διαρρηγνύεται/«σπάζεται» ώστε να γίνει υγρής φύσης και μετά συσκευάζεται.
- **Παγωμένο**, το οποίο επώαζεται σε ζυμωτήρα και έπειτα καταψύχεται, όπως το παγωτό (Bylund 1995).

1.5.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

Τα εμπορικά γιαούρτια χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, απλό/φυσικό, με φρούτα και αρωματισμένο, και παράγονται είτε σε μορφή πόσιμου/ανακατεμένου ή τύπου σετ. Τα στάδια για την παραγωγή του κάθε τύπου γιαουρτιού φαίνονται περιληπτικά στην **Εικόνα 1.2**. Αν και οι μέθοδοι παραγωγής του γιαουρτιού ποικίλουν ανάλογα με τη χώρα, τον τύπο του προϊόντος και τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται, η παραγωγή του γιαουρτιού ακολουθεί μια σειρά από κοινές πρακτικές, οι οποίες περιλαμβάνουν:

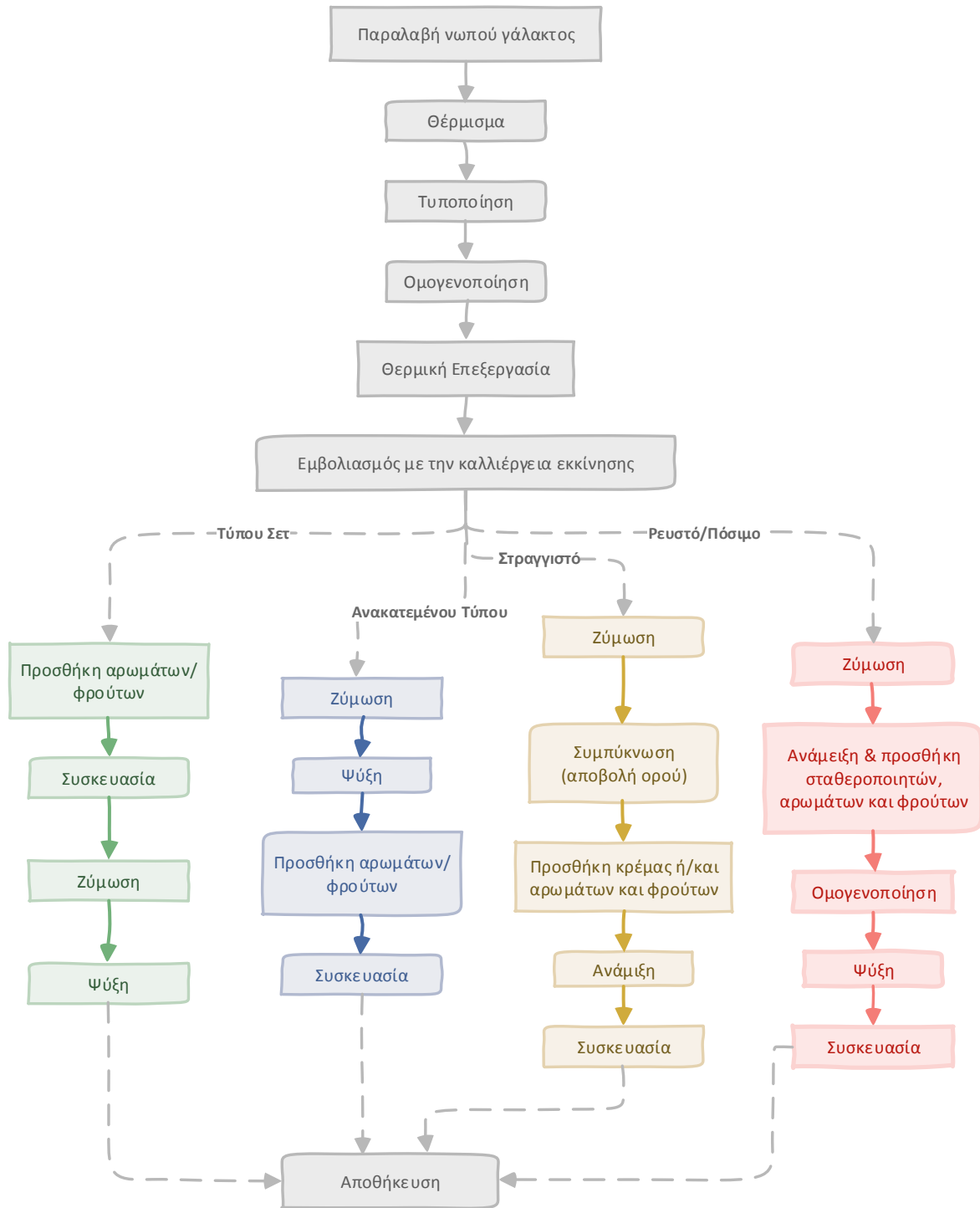
- Τυποποίηση του περιεχομένου σε πρωτεΐνη και λίπος του γάλακτος
- Ομογενοποίηση του γάλακτος στα 15-20 MPa και τους 50-55°C
- Θερμική επεξεργασία του γάλακτος στους 80-85°C για 30 min ή τους 90-95°C για 5-10 min
- Ψύξη στη θερμοκρασία επώασης, εμβολιασμός με την καλλιέργεια εκκίνησης
- Ψύξη του πηγμένου προϊόντος τουλάχιστον στους 20-25°C και πιθανή προσθήκη κατάλληλων συστατικών, όπως μείγματα φρούτων και αρώματα
- Συσκευασία και αποθήκευση υπό συνθήκες ψύξης (Tamime & Robinson 2007).

Τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας του γιαουρτιού, ο τρόπος με τον οποίο το κάθε στάδιο αποτελεί τεχνολογικό παράγοντα και πως επιδρά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στη διάρκεια ζωής του γιαουρτιού αναλύονται στο Κεφάλαιο 2.

Η προσθήκη αρώματος ή γεύσης φρούτων στο γιαούρτι είναι πλέον πολύ δημοφιλής, ωστόσο παρατηρείται στην αγορά μια στροφή προς το παραδοσιακό γιαούρτι. Τα κλασικά πρόσθετα που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή γιαουρτιού είναι το σιρόπι φρούτων ή τα επεξεργασμένα κομμάτια φρούτων. Η αναλογία των φρούτων είναι περίπου 15%, ενώ το 50% από αυτό είναι σάκχαρα. Τα σάκχαρα, ή αλλιώς γλυκαντικές ουσίες, είναι είτε δισακχαρίτες (σακχαρόζη), είτε μονοσακχαρίτες (γλυκόζη) και προστίθενται είτε μόνα τους, είτε μαζί με τα φρούτα. Για την ικανοποίηση των καταναλωτών, προτιμώνται οι γλυκαντικές ουσίες διότι δεν έχουν καμιά διατροφική αξία, αλλά δίνουν την αίσθηση του πολύ γλυκού, όταν χρησιμοποιούνται σε πολύ μικρές δόσεις. Τα φρούτα μπορεί να προστεθούν στο γιαούρτι πριν, ή κατά τη διάρκεια της διαδικασίας συσκευασίας, ή μπορεί να προστεθούν στο κάτω μέρος του κυπέλλου πριν την προσθήκη του πηγματος. Διαφορετικά, δίνεται η επιλογή τα πρόσθετα να βρίσκονται σε ένα «δίδυμο» κύπελλο, προσκολλημένο στο κανονικό. Τα αρώματα-γεύσεις που μπορεί να χρησιμοποιηθούν στο γιαούρτι είναι βανίλια, φράουλα, καραμέλα, μέλι, κ.ά. Το χρώμα και τα σάκχαρα στη μορφή της σακχαρόζης, γλυκόζης ή ασπαρτάμης, προστίθενται μαζί με το άρωμα-γεύση (Bylund 1995).

Η νέα τάση για την παραγωγή γιαουρτιού με φρούτα τείνει και προς προϊόντα με χαμηλά λιπαρά. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε με μείωση του περιεχομένου σε λιπαρά του γάλακτος, είτε με αντικατάσταση των σακχάρων με άλλα συνθετικά σάκχαρα που έχουν λιγότερες θερμίδες, ή/και με αντικατάσταση του ΣΥΑΛ με σταθεροποιητές (Tamime & Robinson 2007). Οι σταθεροποιητές χρησιμοποιούνται πολλές φορές και για την μεταβολή της συνοχής του γιαουρτιού, διότι είναι

υδρόφιλα κολλοειδή και έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν το νερό. Αυξάνουν το ιξώδες και δρουν αποτρεπτικά στην αποβολή ορού από το γιαούρτι.



Εικόνα 1. 2 Διάγραμμα των σταδίων παραγωγικής διαδικασίας για τα γιαούρτια τύπου σετ, ανακατεμένου τύπου, στραγγιστού και ρευστού/πόσιμου (Bylund 1995)

Ο τύπος του σταθεροποιητή που χρησιμοποιείται καθορίζεται από τον εκάστοτε παραγωγό, ενώ αν χρησιμοποιηθεί με λάθος τρόπο τότε το τελικό προϊόν μπορεί να είναι πολύ ελαστικό ή πολύ σκληρό. Στο φυσικό γιαούρτι δεν απαιτείται η χρήση σταθεροποιητή, σε αντίθεση με τα γιαούρτια με πρόσθετα φρούτων. Οι σταθεροποιητές που χρησιμοποιούνται είναι συνήθως η ζελατίνη, η πηκτίνη, το άμυλο ή το άγαρ-άγαρ, και η συνολική τους συγκέντρωση στο όξινο πήγμα κυμαίνεται μεταξύ 0,1-0,5% (Bylund 1995).

Επιπρόσθετα, πέρα από τα φρούτα, έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες για την προσθήκη διαφορετικών τροφίμων για την αύξηση του βαθμού αρεσκείας από το καταναλωτικό κοινό, όπως είναι τα αποξηραμένα φρούτα ή οι σκόνες λαχανικών. Αυτά αποτελούν φυσικές πηγές πηκτίνης και βιταμίνης C, και μπορεί να παρουσιάζουν θεραπευτικές ιδιότητες σε ασθενείς με διαταραχές στο πεπτικό σύστημα (Tamime & Robinson 2007). Εναλλακτικά, έχει προταθεί και η χρήση καρότου ή φυσικών αποσταγμάτων από φρέσκα λαχανικά. Άλλες ιδέες που έχουν προταθεί περιλαμβάνουν α) τα γιαούρτια με φρούτα που περιέχουν ίνες σόγιας ή βρόμη, β) γιαούρτι για σάλτσα σαλάτας με αλάτι, μπαχαρικά, αποξηραμένα κρεμμύδια, σκόρδο και μαϊντανό ή dip γιαουρτιού με κρεμμύδι, τυρί τύπου Cheddar και μπλε τυριά, γ) γιαούρτι ανακατεμένο με ειδικά επεξεργασμένα δημητριακά για να διατηρούν αφράτη δομή, και δ) γιαούρτι ενισχυμένο με ασβέστιο (Tamime & Robinson 2007, Pirkul et al. 1997).

1.5.3 ΕΙΔΗ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

Η καταγωγή του γιαουρτιού θεωρείται η Βαλκανική χερσόνησος και η Μέση Ανατολή, και παρόλη την εγγύτητα με την Ευρώπη, το γιαούρτι και τα παράγωγα άργησαν πολύ να εξαπλωθούν. Τη δεκαετία του '50 φαίνεται να γίνεται η πρώτη παραγωγή γιαουρτιού σε ευρωπαϊκό επίπεδο στην Ελβετία, όπου έγινε η εισαγωγή επιδορπίων γιαουρτιού με φρούτα και με γλυκαντικές ουσίες. Τα τελευταία χρόνια έχει λάβει χώρα μεγάλος όγκος έρευνας για την παραγωγή νέων προϊόντων που βασίζονται στις παραδοσιακές τεχνικές παραγωγής. Η έρευνα αυτή είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή πολλών προϊόντων πέρα από τα παραδοσιακά, τα οποία πολλές φορές έχουν ως στόχο να ικανοποιήσουν ομάδες με διατροφικές δυσλειτουργίες. Παρακάτω αναφέρονται οι κυριότερες βιβλιογραφικές αναφορές για τα βασικά προϊόντα γιαουρτιού.

1.5.3.1 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

Εκτός από το αγελαδινό γάλα χρησιμοποιούνται και εναλλακτικά γάλατα για την παραγωγή του γιαουρτιού. Αυτά είναι το πρόβειο, το γίδινο και το βουβαλίσιο γάλα, τα οποία είναι ιδιαίτερα δημοφιλή σε περιοχές γύρω από τη Μεσόγειο, στη Μέση Ανατολή, στην νότια Ρωσία και στην Ινδία. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το γάλα καμήλας, αλλά δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για το συγκεκριμένο. Παρόλο που τα συγκεκριμένα γάλατα επεξεργάζονται όπως και το αγελαδινό γάλα, παρατηρούνται κάποιες διαφορές στα καζεϊνικά κλάσματα, λόγω των διαφορετικών ειδών προβάτου και αίγας σε σύγκριση με τα είδη αγελάδας.

Σύμφωνα με τους Tamime & Marshall (2007), οι ποσότητες των καζεϊνικών στοιχείων στα συγκεκριμένα γάλατα είναι:

- Μικρές καζεΐνες: αγελαδινό > πρόβειο > βουβαλίσιο > γίδινο
- κ-καζεΐνες: βουβαλίσιο > γίδινο > αγελαδινό > πρόβειο
- β-καζεΐνες: γίδινο > πρόβειο > αγελαδινό > βουβαλίσιο
- α_s-καζεΐνες: πρόβειο > βουβαλίσιο > αγελαδινό > γίδινο

Αξίζει να σημειωθεί πως και η έκταση της μετουσίωσης των πρωτεϊνών ορού διαφέρει ανάλογα με το γάλα (Law 1995), κάτι που επηρεάζει και τις ρεολογικές ιδιότητες του γιαουρτιού (Tamime & Robinson 2007).

Πρόβειο Γάλα

Όσον αφορά στο πρόβειο γάλα, παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στην διαδικασία της βιομηχανικής παραγωγής τους σε σχέση με το αγελαδινό. Αρχικά, κατά την παραγωγή του παραδοσιακού πρόβειο γιαουρτιού το γάλα πρώτα βράζει, και τοποθετείται σε δοχεία έως ότου ψυχθεί στους 45°C, και στη συνέχεια επωάζεται με την καλλιέργεια εκκίνησης για να ξεκινήσει η ζύμωση, η οποία σταματάει όταν φτάσει στην επιθυμητή τιμή pH. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την δημιουργία κρούστας στην επιφάνεια του γιαουρτιού. Για την βιομηχανική παραγωγή του πρόβειο γιαουρτιού πραγματοποιείται τυποποίηση των λιπαρών, ομογενοποίηση και θέρμανση του γιαουρτιού στους 95°C. Η προσθήκη γεύσεων και αρωμάτων είναι προαιρετική, διότι το πρόβειο γιαούρτι συνήθως πωλείται σκέτο. Για την παραγωγή του γιαουρτιού από πρόβειο γάλα έχει προταθεί η χρήση των μικροοργανισμών *S. salivarius* subsp. *thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, που έχουν απομονωθεί από το παραδοσιακό ελληνικό γιαούρτι λόγω του χαρακτηριστικού αρώματος και της γεύσης που προσδίδουν στο τελικό προϊόν (Tamime & Robinson 2007).

Εκ φύσεως, το πρόβειο γάλα παρουσιάζει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (περίπου 5,8 g ανά 100 g γάλακτος), οπότε δεν απαιτείται ενίσχυση του ΣΥΑΛ του γάλακτος κατά τη διάρκεια παραγωγής του γιαουρτιού. Η ομογενοποίηση του γάλακτος βελτιώνει τη σφικτότητα του προϊόντος αλλά και μειώνει το φαινόμενο της συναίρεσης (Tamime & Robinson 2007). Οι Kisza et al. (1993) έχουν προτείνει να γίνεται η θερμική επεξεργασία στους 91°C για 30 s, για μείωση του χρόνου ζύμωσης σε σχέση με το χρόνο που απαιτείται για τη ζύμωση του αγελαδινού γάλακτος.

Επειδή η γαλακτική περίοδος του πρόβειο γάλακτος διαρκεί μόνο 6 μήνες, δεν υπάρχει μεγάλη διαθεσιμότητα έτσι ώστε να παράγεται πρόβειο γιαούρτι όλο το χρόνο. Γι' αυτό το λόγο έχει προταθεί η διατήρηση του γάλακτος στην κατάψυξη. Μελέτες που πραγματοποίησαν οι Voutsinas et al. (1996a,b) έδειξαν πως στο συμπυκνωμένο πρόβειο γάλα (στο οποίο είχε προστεθεί και κρέμα) α) δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη λιπόλυση μετά από αποθήκευση στους -20°C για 8 μήνες, β) μειώθηκε ο αριθμός της ολικής μικροβιακής χλωρίδας, και γ) το αποψυγμένο και ανασυσταμένο γάλα ήταν αρκετά σταθερό για την παραγωγή γιαουρτιού, όμως παρουσίασε μεγαλύτερο βαθμό συναίρεσης σε σχέση με το γιαούρτι που παράγεται από φρέσκο πρόβειο γάλα.

Γίδινο Γάλα

Η χημική σύνθεση του γίδινου γάλακτος μπορεί να ποικίλει ανάλογα με το είδος της αίγας, το στάδιο του θηλασμού, την γεωγραφική περιοχή και τη διατροφή. Ειδικά, η περιεκτικότητα σε ολικά στερεά παρουσιάζει ένα μεγάλο εύρος από 11,3-15,9 g ανά 100 g προϊόντος. Σε αντίθεση με το γάλα της αγελάδας, στο γίδινο γάλα διαφέρει η διαδικασία ενίσχυσης και η επεξεργασία του, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας του σε ολικά στερεά. Έχει επίσης παρατηρηθεί πως η ζύμωση του γιαουρτιού είναι ταχύτερη, παρόλο που η επιλογή διαφορετικών καλλιεργειών εκκίνησης επηρεάζει τα τελικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού (Tamime & Robinson 2007).

Βουβαλίσιο Γάλα

Το βουβαλίσιο γάλα παρουσιάζει ενδιαφέρον καθώς δεν απαιτεί ομογενοποίηση σε βιομηχανικό επίπεδο. Για την παραγωγή γιαουρτιού από αυτό το γάλα γίνεται αρχικά τυποποίηση του λίπους στο 3%, και στη συνέχεια θερμαίνεται στους 85-90°C για 5-10 min, για να ακολουθήσει η ζύμωση στο κύπελλο. Η απουσία της διαδικασίας της ομογενοποίησης ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι το συγκεκριμένο γάλα περιέχει 4,3% πρωτεΐνη και 8,6% λίπος (Spanghero & Susmel 1996), κάτι που είναι αποδεκτό για την παραγωγή γιαουρτιού τύπου σετ με κρεμμώδη υφή. Η παραγωγή γιαουρτιού από βουβαλίσιο γάλα συνηθίζεται κυρίως στις περιοχές της Ινδίας και αποκαλείται το τελικό προϊόν ονομάζεται dahi. Έρευνες έχουν δείξει πως η μικροδομή του dahi επηρεάζεται από το ύψος της εφαρμοζόμενης θερμοκρασίας στο γάλα (Tamime & Robinson 2007).

Γάλα Καμήλας

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω για το γιαούρτι από γάλα καμήλας δεν υπάρχουν αρκετές βιβλιογραφικές αναφορές. Ωστόσο, είναι γνωστό πως είναι σύνηθες σε τροπικά κλίματα και έχει ένα θολό λευκό χρώμα. Η χημική του σύνθεση, όπως και στο πρόβειο γάλα, επηρεάζεται από το είδος της καμήλας, το στάδιο θηλασμού, το είδος της ζωτροφής και τη διαθεσιμότητα του πόσιμου νερού. Κάποια δεδομένα που έχουν συλλεχθεί δίνουν ένα εύρος της ποσότητας των συστατικών του γάλακτος, τα οποία κυμαίνονται μεταξύ: 9,8-14,4% για τα ολικά στερεά, 3,2-5,5% για το λίπος, 3,4-5,5% για τη λακτόζη, 2,7-4,5% για την πρωτεΐνη, και τέφρα 0,6-0,9% (Zhang et al. 2005, Wernery et al. 2005). Οι Hashim et al. (2009) πραγματοποίησαν έρευνα για το ποσοστό αρέσκειας του γιαουρτιού τύπου σετ από γάλα καμήλας και κατέληξαν πως, η προσθήκη αρωμάτων στο γιαούρτι έχει θετική αποδοχή από τους δοκιμαστές, ενώ η προσθήκη 0,75% αλγινικού νατρίου και 0,075% χλωρικού ασβεστίου έχει ως αποτέλεσμα ένα γιαούρτι παρόμοιο με αυτό που παράγεται από αγελαδινό γάλα.

1.5.3.2 ΣΤΡΑΓΓΙΣΤΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Το στραγγιστό γιαούρτι αποτελεί ένα προϊόν το οποίο έχει στραγγιστεί έτσι ώστε να απομακρυνθεί ο ορός, κάτι που έχει σαν αποτέλεσμα ένα πιο συμπαγές προϊόν, ενώ παράλληλα διατηρεί την χαρακτηριστική όξινη γεύση του γιαουρτιού. Παραδοσιακά, η παραγωγή του

στραγγιστού γιαουρτιού είναι ιδιαίτερα δημοφιλής σε χώρες των Βαλκανίων, της Μέσης Ανατολής και της Ασίας. Οι πιο δημοφιλείς ονομασίες που χρησιμοποιούνται για να χαρακτηρίσουν το στραγγιστό γιαούρτι είναι *lebneh* (Μέση Ανατολή), ελληνικού τύπου και *shrikhand* ή *chakka* (Ινδία).

Η παραγωγή του στραγγιστού γιαουρτιού βασίζεται στον τρόπο απομάκρυνσης του ορού. Σήμερα, τέσσερις μέθοδοι είναι οι πιο δημοφιλείς για την περάτωση αυτής της διεργασίας: α) η χρήση υφασμάτινης σακούλας ή αλλιώς συστήματος «Berge», η οποία έχει ως αρχή την πίεση του γιαουρτιού έτσι ώστε να διαφύγει ο ορός από τους πόρους της σακούλας, β) η χρήση μηχανικών διαχωριστήρων, κατά την οποία το ζυμωμένο όξινο πήγμα αναδεύεται σε μεγάλα δοχεία βιομηχανικού τύπου και στη συνέχεια φιλτράρεται έτσι ώστε να διαφύγει ο ορός, γ) η χρήση της μεθόδου της υπερδιήθησης ή δ) η σύνθεση του προϊόντος από ανασυσταμένη σκόνη γάλακτος σε νερό, σε συνδυασμό με άνυδρο γάλα, λίπος και σταθεροποιητές, έτσι ώστε το τελικό προϊόν να έχει πολύ μικρή περιεκτικότητα σε ορό.

Έχει παρατηρηθεί πως τόσο η διατροφική αξία, όσο και οι θεραπευτικές ιδιότητες του στραγγιστού γιαουρτιού είναι βελτιωμένες σε σχέση με το απλό γιαούρτι. Έρευνες έχουν δείξει πως το στραγγιστό γιαούρτι έχει αντιβακτηριδιακές ιδιότητες ενάντια αρκετών παθογόνων μικροοργανισμών, ενώ παρουσιάζει και μεγάλη περιεκτικότητα σε διάφορα είδη βιταμίνης Β (Tamime & Robinson 2007).

1.5.3.3 ΠΟΣΙΜΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Το πόσιμο γιαούρτι ανήκει στην κατηγορία του ανακατεμένου γιαουρτιού και χαρακτηρίζεται από το χαμηλό ιξώδες και καταναλώνεται σαν δροσιστικό αφέψημα. Στην περιοχή της Τουρκίας το πόσιμο γιαούρτι ονομάζεται *ayran* και παράγεται από πλήρες γάλα, στο οποίο μετά τη ζύμωση προστίθεται περίπου 35% νερό και 1% αλάτι, και αναδεύεται για να αφαιρεθούν οι κόκκοι. Στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική, το πόσιμο γιαούρτι παράγεται από γάλα με χαμηλά λιπαρά, και χαμηλή περιεκτικότητα σε ολικά στερεά. Συνηθίζεται στο προϊόν αυτό να προστίθεται άρωμα-γεύση φρούτων, όπως φράουλα, βατόμουρο, μήλο, ανανάς, πορτοκάλι, λεμόνι ή καρότο. Το πόσιμο γιαούρτι μπορεί να λειτουργήσει ως ένα δροσιστικό αφέψημα, με ευχάριστη γεύση ενώ παράλληλα προσδίδει στον ανθρώπινο οργανισμό πολλά θρεπτικά στοιχεία (Tamime & Robinson 2007).

1.5.3.4 ΓΙΑΟΥΡΤΙ ΜΑΚΡΑΣ ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ

Λόγω της τάσης για μεγαλύτερη και πιο στοχευμένη παραγωγή, οι αγορές απομακρύνονται γεωγραφικά και η αποστάσεις διανομής γίνονται μεγαλύτερες. Σε κάποιες περιπτώσεις η απόσταση από την βιομηχανία έως το πρατήριο πώλησης μπορεί να είναι τόσο μακριά, που να πραγματοποιείται μια φορά την εβδομάδα. Επιπλέον, σε κάποιες χώρες δεν υπάρχει η δυνατότητα διατήρησης της ψυκτικής αλυσίδας. Έτσι γεννήθηκε η ανάγκη για ανάπτυξη μεθόδων που έχουν ως σκοπό την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής του γιαουρτιού πέρα από την κανονική. Έτσι

δημιουργήθηκε το αποστειρωμένο γιαούρτι, το οποίο μπορεί να διατηρηθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Η διάρκεια ζωής των ζυμωμένων προϊόντων μπορεί να επεκταθεί με δύο τρόπους, α) παραγωγή και συσκευασία υπό ασηπτικές συνθήκες, και β) θερμική επεξεργασία του όξινου πηγματος, είτε αμέσως πριν την συσκευασία ή μέσα στη συσκευασία (Bylund 1995).

1.5.3.5 ΠΑΓΩΜΕΝΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Το παγωμένο γιαούρτι χωρίζεται σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες: μαλακό, σκληρό και σε μορφή αφρόκρεμας (μους). Αυτά τα προϊόντα μοιάζουν με το παγωτό στη φυσική τους κατάσταση, αλλά διατηρούν την χαρακτηριστική όξινη γεύση του γιαουρτιού σε συνδυασμό με δροσιστική αίσθηση του απλού παγωτού. Επιπρόσθετα, τα προϊόντα αυτά περιέχουν υψηλότερα επίπεδα ζάχαρης και σταθεροποιητών σε σχέση με το απλό γιαούρτι, διότι πρέπει να διατηρήσουν τις φυσαλίδες αέρα στη δομή τους κατά την διάρκεια της διεργασίας της κατάψυξης.

Η διαδικασία παραγωγής του παγωμένου γιαουρτιού περιλαμβάνει την μίξη κρύου, φυσικού, στραγγιστού γιαουρτιού με κρύο σιρόπι φρούτων, σταθεροποιητές και ζάχαρη (τα τελευταία προσθέτονται ζεστά στην περίπτωση παραγωγής παγωμένου γιαουρτιού τύπου μους), και στη συνέχεια, το μίγμα καταψύχεται σε ένα τυπικό καταψύκτη παγωτού. Η χημική σύσταση του παγωμένου γιαουρτιού/μίγμα φρούτων και η θερμοκρασία κατά την αποθήκευση επηρεάζουν τα τελικά φυσικά χαρακτηριστικά των προϊόντων αυτών, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 1.8**.

Πίνακας 1. 8 Προτεινόμενη % χημική σύσταση των διαφορετικών μιγμάτων παγωμένου γιαουρτιού (Tamime & Robinson 2007)

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΑΓΩΜΕΝΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ		
	ΜΑΛΑΚΟ	ΣΚΛΗΡΟ	ΜΟΥΣ
<i>Λιπαρά (%)</i>	2-6	2-6	3
<i>ΣΥΛΛ Γάλακτος (%)</i>	5-10	5-14	12
<i>Ζάχαρη (%)</i>	8-20	8-16	8
<i>Σταθεροποιητές (%)</i>	0,2-0,6	0,2-1,0	2,4

Όπως και το κανονικό γιαούρτι, έτσι και το παγωμένο μπορεί να παρασκευαστεί από πρόβειο ή από βουβαλίσιο γάλα. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ελληνικό στραγγιστό γιαούρτι με χαμηλά λιπαρά στο οποίο έχουν προστεθεί κομμάτια φρούτων. Επιπρόσθετα, μπορεί να παρασκευαστεί και παγωμένο γιαούρτι με χαμηλά λιπαρά, χρησιμοποιώντας γάλα με χαμηλή περιεκτικότητα σε ολικά στερεά ή με υποκατάστατα λίπους και τεχνητές γλυκαντικές ουσίες (Tamime & Robinson 2007).

1.5.3.6 ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Ο πρωτεύων στόχος για την παρασκευή γιαουρτιού σε μορφή σκόνης είναι η αποθήκευση του προϊόντος σε μια σταθερή και άμεσα αξιοποιήσιμη κατάσταση. Παραδοσιακά, το αποξηραμένο γιαούρτι παράγεται από απλό γιαούρτι με χαμηλά λιπαρά, το οποίο στραγγίζεται, και απλώνεται στον ήλιο και χρησιμοποιείται από κατοίκους της ερήμου στην προετοιμασία παραδοσιακών φαγητών, σούπας, ή καταναλώνονται σαν μπισκότα μαζί με το τσάι. Σήμερα, το αποξηραμένο γιαούρτι κατασκευάζεται με δύο τρόπους, είτε με ξήρανση με ψεκασμό ή με ξήρανση υπό κατάψυξη, και παρόλο που η δεύτερη παράγει ένα καλύτερο προϊόν τόσο σε δομή όσο και σε γεύση, είναι αρκετά ακριβή για να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή αποξηραμένου γιαουρτιού σε εμπορική κλίμακα, οπότε και επιλέγεται η πρώτη.

Κατά τον επανασχηματισμό του γιαουρτιού από αποξηραμένο γιαούρτι με ενυδάτωση, παρατηρούνται σημαντικές διαφορές τόσο στη δομή όσο και στη γεύση του τελικού προϊόντος από το φρέσκο γιαούρτι. Κάποιες εναλλακτικές χρήσεις του αποξηραμένου γιαουρτιού, που έχουν προταθεί, περιλαμβάνουν προϊόντα όπως γκοφρέτες, σοκολάτες ή καραμέλες με γεύση γιαουρτιού, σκευάσματα σούπας, και τυπ (Tamime & Robinson 2007).

1.5.3.7 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Είναι γνωστή η διατροφική αξία του γιαουρτιού, αλλά πλέον παράγονται ειδικά γιαούρτια για διαιτητικούς ή θεραπευτικούς λόγους τα οποία κατατάσσονται στην κατηγορία των λειτουργικών. Το γεγονός ότι τα περισσότερα στελέχη των μικροοργανισμών *L. bulgaricus* και *S. thermophilus* δεν επιβιώνουν στο έντερο μπορεί να αποτελεί έναν περιοριστικό παράγοντα, όταν το γιαούρτι χρησιμοποιείται για αντιβιοτική θεραπεία ή/και για άλλους θεραπευτικούς σκοπούς. Οι κύριοι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια εκκίνησης για την ζύμωση του λειτουργικού γιαουρτιού ανήκουν στις οικογένειες μικροοργανισμών *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* και *Pedococcus*. Έρευνες έχουν δείξει πως τα γαλακτικά βακτήρια, που είναι παρόντα στο λειτουργικό γιαούρτι, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση ασθενειών (Tamime & Robinson 2007).

1.5.3.8 ΓΙΑΟΥΡΤΙ ΑΠΟ ΓΑΛΑ ΣΟΓΙΑΣ

Λόγω της παγκόσμιας έλλειψης τροφίμων, πραγματοποιούνται προσπάθειες για την ανεύρεση εναλλακτικών πηγών πρωτεΐνης, ειδικά για τις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου ο υποσιτισμός είναι ένα σοβαρό πρόβλημα. Δεδομένου ότι η σόγια είναι ένα προϊόν φθινό, βρίσκεται σε αφθονία και είναι πλούσιο σε πρωτεΐνη (βλ. Πίνακα 1.9), έχει αφιερωθεί αρκετή προσπάθεια στην εκμετάλλευσή τους για την παραγωγή εύγευστων και αποδεκτών προϊόντων διατροφής.

Πίνακας 1. 9 Συγκριτική % περιεκτικότητα στο γάλα σόγιας και το γάλα αγελάδας (Tamime & Robinson 2007)

ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΓΑΛΑ ΣΟΓΙΑΣ	ΓΑΛΑ ΑΓΕΛΑΔΑΣ
Πρωτεΐνη (%)	3,6	3,3
Λιπαρά (%)	1,9	3,9
Υδατάνθρακες (%)	2,8	4,7
Τέφρα(%)	0,4	0,7
Νερό (%)	91,3	87,4

Παρόλο που έχουν εκδηλωθεί αντιρρήσεις σχετικά με την χρήση σόγιας για την παραγωγή προϊόντων διατροφής λόγω της παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα, υδρογόνου και μεθανίου από την χλωρίδα του εντέρου κατά την αποσύνθεση ή/και τον μεταβολισμό των ολιγοσακχαριτών που υπάρχουν στη σόγια, τα προβλήματα αυτά μπορούν να ξεπεραστούν με κατάλληλη επεξεργασία. Σήμερα, υπάρχουν δύο τεχνικές επεξεργασίας για την παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων με χρήση σόγιας. Η πρώτη αποτελεί την χρήση γάλακτος σόγιας για την παραγωγή προϊόντων τύπου γιαουρτιού, ενώ η δεύτερη περιλαμβάνει την χρήση εκχυλισμάτων σόγιας, για την ενίσχυση της χημικής σύστασης του γάλακτος ζωικής προέλευσης και την παραγωγή γιαουρτιού με εμπλουτισμένη σύσταση (Tamime & Robinson 2007).

1.5.4 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

Το γάλα αποτελεί ένα προϊόν με μεγάλη διατροφική αξία, και παρόλο που η ζύμωση του γάλακτος επιφέρει αρκετές αλλαγές στην σύσταση του τελικού προϊόντος, τελικά δεν υπάρχει μεγάλη διαφορά στην διατροφική αξία μεταξύ των ζυμωμένων και μη ζυμωμένων γαλάτων. Στον **Πίνακα 1.10** παρουσιάζονται κάποιες αντιπροσωπευτικές τιμές των βασικών συστατικών διαφόρων τύπων γιαουρτιού. Αξίζει να σημειωθεί πως η διαδικασία της ζύμωσης δεν επιφέρει σημαντικές διαφορές στην περιεχόμενη ενέργεια του προϊόντος. Ο μεταβολισμός της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ μειώνει ελάχιστα την ενεργειακή αξία των παραγόμενων όξινων πηγμάτων. Επιπλέον, η σύσταση του γάλακτος μπορεί να επηρεαστεί από τις συνθήκες στα διάφορα στάδια της επεξεργασίας του.

Έρευνες έχουν δείξει πως το γιαούρτι καταναλώνεται ευκολότερα από ομάδες ανθρώπων που παρουσιάζουν δυσανεξία στη λακτόζη, λόγω της χαμηλότερης περιεκτικότητας σε λακτόζη. Ένας ακόμη παράγοντας που βοηθάει στην καλύτερη κατανάλωση της λακτόζης είναι ο ρόλος που παίζει η δράση της λακτάσης που προέρχεται από τα βακτηρία του γιαουρτιού και η διέγερση της δραστηριότητας της λακτάσης στο έντερο από το γιαούρτι. Εναλλακτικά, έχει προταθεί πως το γιαούρτι καθυστερεί την εξάντληση των περιεχομένων του στομάχου, έτσι ο χρόνος επαφής των ενζύμων που υδρολύουν την λακτόζη με το υπόστρωμα επεκτείνεται, με αποτέλεσμα την καλύτερη πέψη της λακτόζης.

Πίνακας 1. 10 Αντιπροσωπευτικές τιμές βασικών συστατικών διαφόρων τύπου γιαουρτιού (ανά 100g)
(Tamime & Robinson 2007)

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΓΙΑΟΥΡΤΙ*		
	ΠΛΗΡΕΣ	ΧΑΜΗΛΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ	ΧΑΜΗΛΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΜΕ ΦΡΟΥΤΑ
<i>Νερό (g)</i>	81,9	84,9	77,0
<i>Ενέργεια (kcal)</i>	79	56	90
<i>Πρωτεΐνη (g)</i>	5,7	5,1	4,1
<i>Λιπαρά (g)</i>	3,0	0,8	0,7
<i>Υδατάνθρακες (g)</i>	7,8	7,5	17,9
<i>Ασβέστιο (mg)</i>	200	190	150
<i>Φώσφορος (mg)</i>	170	160	120
<i>Νάτριο (mg)</i>	80	83	64
<i>Κάλιο (mg)</i>	280	250	210
<i>Ψευδάργυρος (mg)</i>	0,7	0,6	0,5

* Το ύψος της θρεπτικής αξίας στο γιαούρτι φρούτων μπορεί να ποικίλει ανάλογα με το είδος φρούτων και τους σταθεροποιητές που έχουν χρησιμοποιηθεί

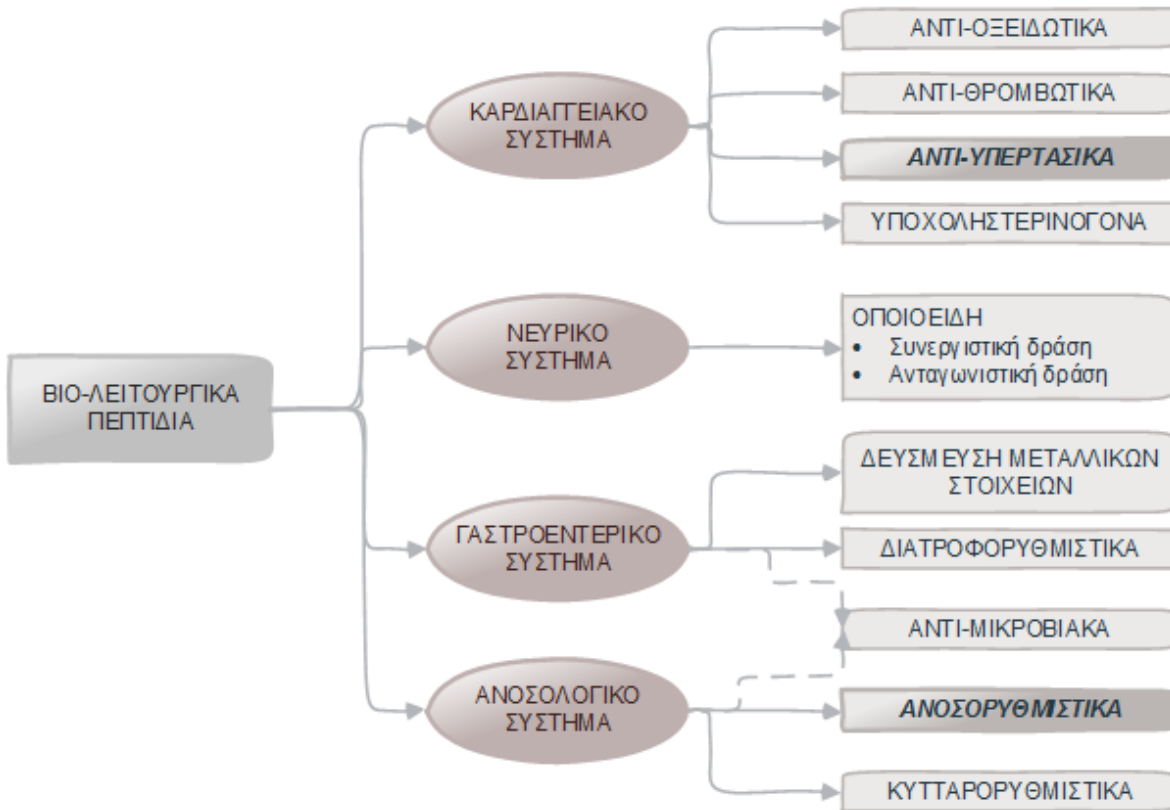
Επιπλέον, η κατανάλωση των ζυμωμένων γαλάτων προκαλεί μικρή αύξηση στο pH του στομάχου κι έτσι μειώνει κατά πολύ την πιθανότητα της διέλευσης παθογόνων μικροοργανισμών στο στομάχι. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για ανθρώπους των οποίων είναι αποδυναμωμένη η έκκριση των γαστρικών υγρών, π.χ. στους ηλικιωμένους και στα μωρά. Επιπλέον εργαστηριακές έρευνες, έχει δείξει ότι τα γαλακτικά βακτήρια μπορούν να σχηματίζουν αντιβιοτικές ενώσεις που είναι σε θέση να αντιμετωπίζουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς (Waalstra, Wouters & Geurts 2006).

1.5.4.1 ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Πέρα από το γεγονός ότι τα ζυμωμένα γάλατα, και συγκεκριμένα το γιαούρτι, προσφέρει ενέργεια και πληθώρα θρεπτικών συστατικών, είναι και μια εξαιρετική πηγή βιο-λειτουργικών πεπτιδίων. Αυτά αποτελούν μικρές πρωτεϊνικές αλυσίδες (<20 αμινοξέα) και έχουν μοριακό βάρος <10 kDa. Όταν καταναλώνονται παρέχουν φυσιολογικά οφέλη, όπως μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων, κατασταλτικό ρόλο στην ανάπτυξη όγκων και μείωση της πίεσης του αίματος (Aluko 2012).

Τα περισσότερα βιο-λειτουργικά πεπτίδια απαντώνται ως ακολουθίες αμινοξέων μέσα στις πολυπεπτιδικές αλυσίδες των πρωτεϊνών και εντοπίζονται κυρίως στις καζεΐνες. Όταν βρίσκονται εκεί, δεν παρουσιάζουν καμία δραστικότητα. Στο γάλα, τα πεπτίδια αυτά μπορούν να αποκτήσουν την δραστικότητα τους με α) ενζυμική υδρόλυση από πεπτικά ένζυμα, β) ζύμωση του γάλακτος με καλλιέργεια εκκίνησης που αποτελείται από πρωτεολυτικούς μικροοργανισμούς και γ) πρωτεόλυση από ένζυμα που προέρχονται από μικροοργανισμούς ή φυτά. Με αυτό τον τρόπο τα πεπτίδια ενεργοποιούνται, δηλαδή γίνονται βιο-λειτουργικά, και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως

συστατικά για την παραγωγή θεραπευτικών τροφίμων. Τα βασικότερα βιο-λειτουργικά πεπτίδια, καθώς και η συμβολή τους στον ανθρώπινο οργανισμό, παρουσιάζονται στην **Εικόνα 1.3** (Nongonierma & FitzGerald 2015).



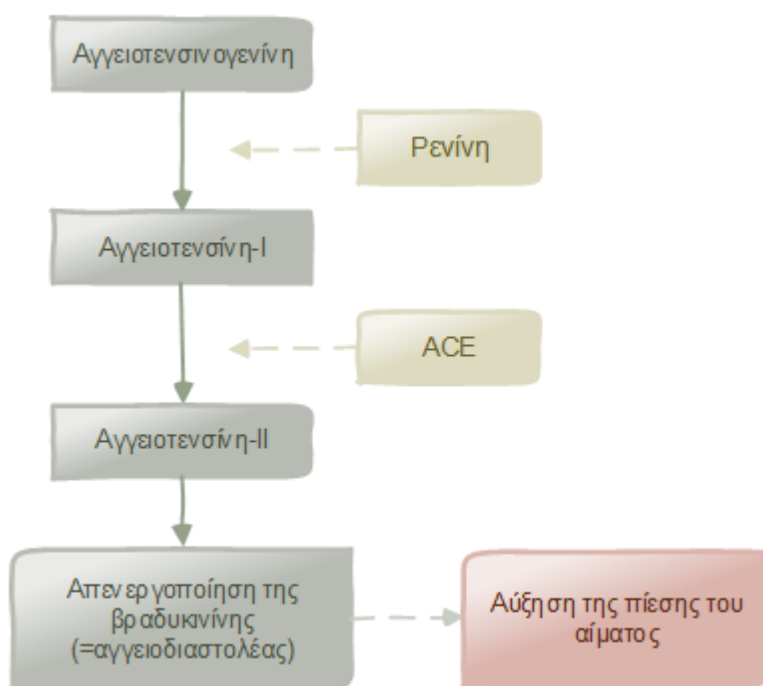
Εικόνα 1. 3 Ιδιότητες των βιο-λειτουργικών πεπτιδίων που προέρχονται από το γάλα (Korhonen & Pihlanto 2006)

Στο γιαούρτι, τα βιο-λειτουργικά πεπτίδια ενεργοποιούνται μέσω της μικροβιακής ζύμωσης. Πολλές καλλιέργειες εκκίνησης που χρησιμοποιούνται σε βιομηχανικό επίπεδο είναι πλούσιες σε πρωτεολυτικά ένζυμα. Το πρωτεολυτικό σύστημα των γαλακτικών βακτηρίων, π.χ. *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus* και *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό και αποτελείται από ένα κυτταρικό τοίχωμα με δεσμευμένη πρωτεΐνάση και έναν αριθμό διακριτών ενδοκυτταρικών πεπτιδασών, συμπεριλαμβανομένων των ενδοπεπτιδασών, αμινοπεπτιδασών, δι- και τριπεπτιδασών. Μέσα από αυτή την διαδικασία ενεργοποιούνται αρκετά βιο-λειτουργικά ένζυμα όπως, τα αντι-υπερτασικά, τα ανοσορυθμιστικά, τα αντιοξειδωτικά και τα αντιμικροβιακά πεπτίδια (Korhonen & Pihlanto 2006). Τα αντι-υπερτασικά πεπτίδια αναλύονται παρακάτω διότι αποτέλεσαν τμήμα της μελέτης που πραγματοποιήθηκε στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία.

1.5.4.1.1 ANTI-ΥΠΕΡΤΑΣΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ

Τα αντι-υπερτασικά πεπτιδία που προέρχονται από το γάλα και ειδικά οι αναστολείς του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης (Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor, ACE) έχουν μελετηθεί αρκετά τα τελευταία χρόνια. Αυτό ίσως σχετίζεται με το γεγονός ότι ο αριθμός των θανάτων που προκαλούνται από καρδιαγγειακές παθήσεις έχει αυξηθεί πολύ τα τελευταία χρόνια (World Health Organisation, WHO 2013a). Η υψηλή πίεση στο αίμα είναι ένας τροποποιήσιμος παράγοντας κινδύνου για τις καρδιαγγειακές παθήσεις (Nongonierma & FitzGerald 2015).

Στην **Εικόνα 1.4** φαίνεται η ρύθμιση της ροής του αίματος μέσω της δράσης της ρενίνης και του ACE. Πιο αναλυτικά, η ρενίνη δρα στην αγγειοτενσινογενίνη, η οποία μεταβολίζεται στην αγγειοτενσίνη-I, και στη συνέχεια το πεπτιδίο του ACE ρυθμίζει το μεταβολισμό της αγγειοτενσίνης-I στην ορμόνη αγγειοτενσίνη-II. Η αγγειοτενσίνη-II αποτελεί έναν αγγειοσυστολέα, που απενεργοποιεί την βραδυκίνητη, που είναι αγγειοδιαστολέας και με αυτόν τον τρόπο προκαλείται αύξηση στην πίεση του αίματος (Silva & Malcata 2005).



Εικόνα 1.4 Ρύθμιση της ροής του αίματος μέσω της δράσης της ρενίνης και του ACE (Aluko 2012)

Η δράση του ACE οδήγησε το 1979 στην ανακάλυψη του αναστολέα του, μέσω της υδρόλυσης της ζελατίνης με κολλαγενάση από το *Clostridium histolyticum*, και αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την ταυτοποίηση των δύο διάσημων τριπεπτιδίων VPP (Βαλίνη-Προλίνη- Προλίνη) και

IPP (Ισολευκίνη- Προλίνη- Προλίνη), τα οποία είναι υπεύθυνα για την αντι-υπερτασική δράση κάποιων ζυμωμένων γαλάτων, συμπεριλαμβανομένου και του γιαουρτιού. Η αναστολή του ACE είναι ανάλογη με την ισχύ των πεπτιδίων και εκφράζεται ως η συγκέντρωση που είναι ικανή να αναστείλει το 50% της δράσης του ACE (IC₅₀). Έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε ανθρώπους έδειξε πως με την κατανάλωση των ζυμωμένων γαλάτων μειώθηκε η συστολική πίεση του αίματος (Aluko 2012).

1.5.4.1.2 ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος που αποτελούν προϊόντα υδρόλυσης και τα πεπτίδια που προέρχονται τόσο από τις καζεΐνες όσο και από τις πρωτεΐνες ορού, παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού μηχανισμού των κυττάρων, το οποίο εξαρτάται από τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων, τη σύνθεση αντισωμάτων και τη ρύθμιση της κυτοκίνης (Korhonen & Pihlanto 2006). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα πεπτίδια που απελευθερώνονται κατά την ζύμωση του γάλακτος, διότι έχει παρατηρηθεί ότι είναι σε θέση να ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων, να μειώνουν την παραγωγή κάποιων κυτοκινών και να τονώνουν τη φαγοκυτταρική δραστηριότητα των μακροφάγων (Meisel & FitzGerald 2003).

Τα ανοσορυθμιστικά πεπτίδια, τα οποία βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο αγελαδινό γάλα, προέρχονται συνήθως από τις καζεΐνες του γάλακτος. Παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων τύπου T, τα οποία αποτελούν τη φυσική προστασία των νεογνών από ένα μεγάλο αριθμό βακτηρίων, ιδιαίτερα από τα εντερικά βακτηρίδια. Επιπλέον, η κατανάλωση του γάλακτος έχει συνδεθεί με την ανοσοδιεργετική του επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό. Σε κάποιες περιπτώσεις μπορούν να ανακουφίζουν από αλλεργικές αντιδράσεις και να ενισχύουν την ανοσία στη βλεννογόνο της γαστρεντερικής οδού. Τέλος, τα ανοσορυθμιστικά πεπτίδια που έχουν σχηματισθεί κατά την ζύμωση του γάλακτος φαίνεται να παρουσιάζουν και αντικαρκινική δράση (Korhonen & Pihlanto 2006, Aluko 2012).

2. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο παρόν κεφάλαιο γίνεται αναφορά στις τεχνολογίες που αφορούν στην παραγωγική διαδικασία των ζυμωμένων γαλάτων, δίνοντας έμφαση στα εμπορικά είδη γιαουρτιού, που είναι το γιαούρτι τύπου σετ, ανακατεμένου τύπου, πόσιμο αλλά και στο στραγγιστό. Παράλληλα, αναλύονται πως οι τεχνολογικοί παράγοντες επιδρούν στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού, και θα παρουσιαστούν οι καινοτόμες εφαρμογές που έχουν ήδη ή πρόκειται να εισαχθούν στην τεχνολογία του γάλακτος για την αντιμετώπιση πιθανών προβλημάτων που εμφανίζονται κατά την παραγωγική διαδικασία, με στόχο τη βελτίωση των τελικών προϊόντων.

2.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

Η διαδικασία παραγωγής του γιαουρτιού αποτελεί μια αρχαία τέχνη, της οποίας η εφαρμογή χρονολογείται πριν από χιλιάδες χρόνια. Ωστόσο τις τελευταίες δεκαετίες, η διαδικασία παραγωγής του γιαουρτιού έχει γίνει πιο ορθολογική, κυρίως λόγω των διαφόρων ανακαλύψεων ή/και βελτιώσεων στους τομείς της μικροβιολογίας και της ενζυμολογίας, της φυσικής και της μηχανικής, της χημείας και της βιοχημείας. Η παραδοσιακή μέθοδος παρασκευής του γιαουρτιού παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα, αλλά αποτελεί τη βάση για τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται σήμερα στη βιομηχανία

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή του γιαουρτιού, έτσι ώστε να προκύψει ένα προϊόν το οποίο θα είναι υψηλής ποιότητας και θα έχει επιθυμητά χαρακτηριστικά υφής και εμφάνισης, οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και μεγάλη διάρκεια ζωής. Οι παράγοντες αυτοί αναλύονται παρακάτω, και περιλαμβάνουν την επιλογή των πρώτων υλών, την τυποποίηση του γάλακτος, την προσθήκη πρόσθετων ουσιών στο γάλα, την

ομογενοποίηση και την θερμική επεξεργασία του μίγματος, την επιλογή και την προετοιμασία της καλλιέργειας εκκίνησης και τέλος τον εργοστασιακό σχεδιασμό.

2.2.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΩΝ ΥΛΩΝ

Το γάλα που προορίζεται για την παραγωγή γιαουρτιού πρέπει να είναι υψηλής μικροβιακής ποιότητας, δηλαδή να έχει χαμηλό περιεχόμενο σε βακτήρια, ένζυμα και ουσίες που μπορεί να επιβραδύνουν ή/και να εμποδίζουν τη δράση της καλλιέργειας εκκίνησης. Επιπλέον, δεν θα πρέπει να περιέχει αντιβιοτικά, βακτηριοφάγους, υπολείμματα διαλύματος CIP (Clean-In-Place, μέθοδος καθαρισμού των βιομηχανικών εγκαταστάσεων), ή άλλων αποστειρωτικών διαλυμάτων. Το γάλα που προορίζεται για την παραγωγή του γιαουρτιού θα πρέπει να επιλέγεται από πιστοποιημένους παραγωγούς και να περνάει από τους προβλεπόμενους ελέγχους από την εκάστοτε γαλακτοβιομηχανία (Bylund 1995).

2.2.2 ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Παγκοσμίως, το λίπος και το περιεχόμενο σε στερεά του γάλακτος τυποποιούνται με βάση τον κώδικα των FAO/WHO (2011). Σύμφωνα με αυτόν τον κώδικα, τα λιπαρά στο γιαούρτι μπορούν να κυμαίνονται από 0-10%, αλλά συνηθίζεται να κυμαίνονται από 0,5-3,5% (Bylund 1995). Για την τυποποίηση του περιεχόμενου λίπους στο γάλα ακολουθούνται κατάλληλες τεχνικές όπως α) απομάκρυνση μέρους των λιπαρών με απομάκρυνση μέρους των λιπαρών του γάλακτος μέσω της διεργασίας της αποκορύφωσής του, β) ανάμειξη πλήρους κρέμας γάλακτος με αποβουτυρωμένο γάλα, γ) προσθήκη κρέμας γάλακτος σε αποβουτυρωμένο ή πλήρες γάλα, ή δ) συνδυασμός κάποιων από τις παραπάνω διεργασίες μέσω της εφαρμογής και χρήσης φυγοκεντρικών διαχωριστήρων-τυποποιητών (Tamime & Robinson 2007).

Ο κώδικας FAO/WHO (2011) καθορίζει και τη στερεά ύλη του γάλακτος (πρόκειται κυρίως για την λακτόζη, τις πρωτεΐνες και τα ανόργανα συστατικά) σε παγκόσμιο επίπεδο, αλλά από εκεί και πέρα είναι πρώτιστα ευθύνη της κάθε χώρας να θέτει τα δικά της όρια, και δευτερευόντως του εκάστοτε παραγωγού επιθυμεί να παράγει ένα προϊόν που να πληροί συγκεκριμένες προδιαγραφές. Το κατώτατο όριο για τα ολικά στερεά που τίθεται νομοθετικά κυμαίνεται από 8,2-8,6%, με σκοπό την προστασία του καταναλωτή (Tamime & Robinson 2007). Οι συνηθέστεροι τρόποι για την τυποποίηση της στερεάς ύλης περιλαμβάνουν:

- ο την παραδοσιακή τεχνική εξάτμισης, κατά την οποία ο όγκος του γάλακτος μειώνεται κατά περίπου τα 2/3 του αρχικού του όγκου, η οποία εφαρμόζεται πλέον σε μικρής κλίμακας παραγωγικές μονάδες γαλακτοκομικών προϊόντων,
- ο την προσθήκη σκόνης αποβουτυρωμένου ή πλήρους γάλακτος, συνηθέστερα σε ποσοστό έως 3-4% κ.β.,

- ο την προσθήκη σκόνης βουτυρογάλακτος, το οποίο έχει προέλθει από την παραγωγή του βουτύρου και είναι χαμηλών λιπαρών και πλούσιο σε φωσφολιπίδια,
- ο την προσθήκη σκόνης ή συμπυκνωμάτων ή υδρολυμάτων πρωτεϊνών ορού, συνηθέστερα σε ποσοστό έως 1-2% κ.β., καθώς υψηλότερα ποσοστά προσθήκης μπορεί να επιφέρουν μη επιθυμητό άρωμα ορού στο τελικό προϊόν,
- ο την προσθήκη σκόνης καζεϊνών, καζεϊνικών αλάτων ή υδρολυμάτων,
- ο την προσθήκη συμπυκνώματος γάλακτος το οποίο μπορεί να προέρχεται είτε από εξάτμιση υπό κενό είτε μέσω διεργασιών διήθησης (αντίστροφη ώσμωση, νανοδιήθηδη, μικροδιήθηση ή υπερδιήθηση), και
- ο την προσθήκη πρωτεϊνών διαφορετικής προέλευσης από αυτή του γάλακτος (π.χ. γάλα σόγιας, πρωτεΐνη ηλίανθου κ.ά.) (Tamime & Robinson 2007).

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι για την τυποποίηση/εμπλουτισμό του λίπους ή/και του στερεού υπολείμματος του γάλακτος. Η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται σε πρώτη φάση από το κόστος και την διαθεσιμότητα των πρώτων υλών, το μέγεθος της παραγωγής και το είδος του εξοπλισμού. Ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για την επιλογή της μεθόδου, είναι η σύσταση του γάλακτος. Ανάλογα με τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών, της λακτόζης και του λίπους, επιλέγεται και η αντίστοιχη μέθοδος.

Έρευνες έχουν δείξει πως μία αύξηση στην ποσότητα της στερεής ύλης, και ειδικά στην αναλογία καζεΐνης και πρωτεϊνών ορού, μπορεί να οδηγήσει σε ένα πιο σταθερό πήγμα γιαουρτιού με μειωμένη τάση προς το φαινόμενο της συναίρεσης. Το επίπεδο των στερεών (συμπεριλαμβανομένου και του λίπους) μπορεί να κυμαίνεται από 9,0% στα γιαούρτια χαμηλών λιπαρών έως 30,0% σε άλλα είδη γιαουρτιού. Για βέλτιστο αποτέλεσμα προτείνεται η συγκέντρωση των στερεών να είναι 15-16% και στα περισσότερα εμπορικά προϊόντα η συγκέντρωση κυμαίνεται στο 14-15%. Όταν η συγκέντρωση των στερεών φτάνει το 30%, η συνοχή του τελικού προϊόντος μοιάζει με αυτή του στραγγιστού γιαουρτιού. Επιπρόσθετα, όταν η συγκέντρωση των στερεών ξεπερνά το 25% επηρεάζει τη διαθεσιμότητα του νερού για κάποιους μικροοργανισμούς της καλλιέργειας εκκίνησης, και με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η δράση τους.

Ανεξάρτητα από τη μέθοδο εμπλουτισμού, το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του γάλακτος είναι αυτό που καθορίζει τις ρεολογικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος, αφού η δημιουργία του πήγματος εξαρτάται από τις λειτουργικές ιδιότητες του κλάσματος των πρωτεϊνών. Η χρήση συμπυκνωμάτων πρωτεϊνών ορού σε ποσοστό μικρότερο του 2,0% φαίνεται να μειώνει το φαινόμενο της συναίρεσης, αλλά ο υπερβολικός εμπλουτισμός έχει ως αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να παρουσιάζει κοκκώδη υφή (Onwulata et al. 2004). Η προσθήκη καζεϊνών ίσως είναι πιο αποτελεσματική στην βελτίωση του ιξώδους του γιαουρτιού, σε σχέση με τις πρωτεΐνες ορού. Επίσης παρατηρείται πως η χρήση υδρολυμάτων πρωτεϊνών ορού βελτιώνει την ανάπτυξη του *S. thermophilus*, μειώνει το χρόνο ζύμωσης και παράλληλα ευνοεί την ανάπτυξη θεραπευτικών βακτηρίων (Lucas et al. 2004).

2.2.3 ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑ

Σύμφωνα με τον Ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (2009), το Άρθρο 82 απαγορεύει την πώληση γιαουρτιού που περιέχει ζάχαρη, συντηρητικά ή είναι χρωματισμένο με χρήση κάποιας ουσίας. Η χρήση προσθέτων στο γιαούρτι καλύπτεται από το Άρθρο 84, όπου τα προϊόντα στον οποίον το γάλα έχει γίνει προσθήκη κάποιας ουσίας, τα ονομάζει «επιδόρπια με βάση το γάλα». Ο κύριος λόγος για την χρήση προσθέτων στο γιαούρτι είναι για να μετριαστεί η όξινη γεύση του προϊόντος και η επιλογή τους εξαρτάται από το είδος του γλυκαντικού μέσου και των φρούτων που χρησιμοποιούνται, την αποδοχή από το καταναλωτικό κοινό, τις επιπτώσεις που μπορεί να παρουσιάζουν ως ανασταλτικοί παράγοντες στην ανάπτυξη της καλλιέργειας εκκίνησης, τα νομικό πλαίσιο και τους οικονομικούς παράγοντες. Στα πρόσθετα αυτά ανήκουν:

- οι **σταθεροποιητές**, των οποίων ο ρόλος είναι να αυξάνουν το ιξώδες στο τελικό προϊόν, έτσι ώστε να μειώνεται το φαινόμενο της συναίρεσης. Κάποιοι από αυτούς είναι συνήθως η ζελατίνη, η πηκτίνη, το άμυλο ή το άγαρ-άγαρ,
- η **ζάχαρη** και οι **γλυκαντικές ουσίες**, που προσδίδουν μια πιο γλυκιά γεύση στο τελικό όξινο πήγμα. Οι βασικότερες γλυκαντικές ουσίες είναι η σακχαρόζη, η φρουκτόζη, η γλυκόζη και η σορβιτόλη,
- τα **φρέσκα φρούτα**, τα οποία προσδίδουν διαφορετική διατροφική αξία στο τελικό προϊόν ανάλογα με το είδος του φρούτου που χρησιμοποιείται, και
- τα **συντηρητικά**, τα οποία αποτρέπουν την πρόωγη ανάπτυξη μυκήτων στο προϊόν. Να σημειωθεί πως η χρήση συντηρητικών επιτρέπεται στο γιαούρτι με φρούτα, αλλά απαγορεύεται στο φυσικό γιαούρτι. Το πιο συνηθισμένο συντηρητικό στην γαλακτοβιομηχανία είναι το σορβικό οξύ (Tamime & Robinson 2007).

2.2.4 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ

Τα κυριότερα κίνητρα για την ομογενοποίηση του γάλακτος που προορίζεται για την παραγωγή γιαουρτιού είναι η αποφυγή δημιουργίας κρέμας κατά την διάρκεια της επώασης και την διασφάλιση ομοιόμορφης κατανομής των λιποσφαιριδίων, ενώ παράλληλα βελτιώνει την σταθερότητα και την συνοχή των όξινων πηγμάτων. Για παράδειγμα, όταν η διαδικασία της ομογενοποίησης ακολουθείται από υψηλή θέρμανση στους 90-95°C για περίπου 5 min, έχει πολύ καλή επίδραση στο ιξώδες του γάλακτος (Bylund 1995).

Σε όλες τις περιπτώσεις, η ομογενοποίηση λαμβάνει χώρα στους 60°C, ωστόσο έχει προταθεί, ότι το γάλα πρέπει να ομογενοποιείται στα 20-25 MPa και στους 65-70°C, για να διατηρεί το τελικό προϊόν τα βέλτιστα φυσικά χαρακτηριστικά του (Schkoda et al. 2001).

Η ομογενοποίηση επιφέρει αρκετές φυσικοχημικές μεταβολές στο γάλα που προορίζεται για την παραγωγή του γιαουρτιού και οι περισσότερες από αυτές είναι αποτέλεσμα της μείωσης του μεγέθους των λιποσφαιριδίων. Αναφορικά κάποιες από τις μεταβολές που επιφέρει είναι:

- Αύξηση του ιξώδους, λόγω της μείωσης του μεγέθους των λιποσφαιριδίων και της μεγαλύτερης προσρόφησης τους από τα καζεϊνικά μικκύλια, το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του ενεργού όγκου των αιωρούμενων σωματιδίων
- Αύξηση της δράσης της οξειδάσης της ξανθίνης, λόγω της διάσπασης της μεμβράνης των σωματιδίων η οποία περιέχει τουλάχιστον τη μισή ποσότητα των ενζύμων του γάλακτος
- Αύξηση του λευκού χρώματος του γάλακτος, λόγω της αύξησης του αριθμού των λιποσφαιριδίων, τα οποία επηρεάζουν την αντανάκλαση και την σκέδαση του φωτός
- Αύξηση του φαινομένου της λιπόλυσης λόγω της αύξησης της ενεργής επιφάνειας των λιποσφαιριδίων που είναι διαθέσιμη για να δράσουν οι λιπάσες
- Ενίσχυση της ομοιόμορφης ανάμιξης του μίγματος, ειδικά όταν το γάλα είναι εμπλουτισμένο
- Αύξηση των φωσφολιπιδίων στο αποβουτυρωμένο γάλα και,
- Ενίσχυση των αφριστικών ιδιοτήτων του γάλακτος λόγω της παρουσίας των φωσφολιπιδίων
- Μείωση του μεγέθους των λιποσφαιριδίων, και ελαχιστοποίηση της δημιουργίας επιφάνειας κρέμας κατά την ζύμωση
- Ελάττωση της ταγγής γεύσης στο τελικό προϊόν
- Μείωση της σταθερότητας των πρωτεϊνών, διότι μεταβάλλεται η αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών μεταξύ τους λόγω μετουσίωσης
- Μείωση της συγκέντρωσης της καζεΐνης στο αποβουτυρωμένο γάλα, λόγω μεταφοράς των καζεϊνών στα νέο-σχηματιζόμενα λιποσφαιρίδια
- Μείωση του φαινομένου της συναίρεσης στο τελικό προϊόν, λόγω της αύξησης της υδροφιλίας και τη δυνατότητα δέσμευσης του νερού, που είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των καζεϊνών με τα λιποσφαιρίδια αλλά και των αλληλεπιδράσεων των πρωτεϊνών (Tamime & Robinson 2007).

2.2.5 ΘΕΡΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η θέρμανση του γάλακτος πριν τη ζύμωση έχει ως στόχο την θανάτωση των παθογόνων και ανεπιθύμητων μικροοργανισμών, την παραγωγή διεγερτικών ή ανασταλτικών παραγόντων για την καλλιέργεια εκκίνησης και τη μεταβολή των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του γάλακτος που σχετίζονται με την παραγωγή του γιαουρτιού. Η θερμική επεξεργασία εξαρτάται από δύο παραμέτρους, το χρόνο (t) και τη θερμοκρασία (T). Η επιλογή οποιουδήποτε συνδυασμού t-T βασίζεται στο τελικό επιθυμητό αποτέλεσμα. Οι συνθήκες χρόνου και θερμοκρασίας που εφαρμόζονται τόσο στο γάλα, όσο και στην παραγωγή των ζυμωμένων γαλάτων συνοψίζονται στον **Πίνακα 2.1** (Tamime & Robinson 2007).

Για την παραγωγή του γιαουρτιού, η θερμική επεξεργασία πραγματοποιείται σε συνθήκες υψηλής παστερίωσης. Για παραγωγή μεγάλης κλίμακας επιλέγεται η επεξεργασία στους 90-95°C για 5-10 min, λόγω του μεγάλου όγκου του γάλακτος, αλλά έρευνες έχουν δείξει πως η

επεξεργασία του γάλακτος στους 80-85°C για 30 min έχει καλύτερη επίδραση στην υφή και το ιξώδες του γιαουρτιού. Ωστόσο οι διαφορές είναι πολύ μικρές για να θεωρηθούν σημαντικές (Tamime & Robinson 2007).

Πίνακας 2.1 Συνδυασμοί χρόνου-θερμοκρασίας για τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος και του γιαουρτιού (Tamime & Robinson 2007)

ΧΡΟΝΟΣ	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (°C)	ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ	ΣΧΟΛΙΑ
Μερικά s	≤65	Θέρμιση	Θανάτωση ψυχρότροφων βακτηρίων
30 min 15s	65 72	Παστερίωση	Θανάτωση όλων των μικροοργανισμών στο γάλα, και απενεργοποίηση κάποιων ενζύμων
4-20 s 30 min* 5 min*	85 85 90-92	Υψηλή Παστερίωση	Θανάτωση όλων των βλαστικών κυττάρων και των περισσότερων ενζύμων, εκτός από τα σπόρια. Μετουσίωση κάποιων πρωτεϊνών ορού.
40-20 min	110-120	Αποστείρωση (στο δοχείο)	Θανάτωση όλων των μικροοργανισμών και των σπορίων. Επίδραση στο χρώμα και στην γεύση του γάλακτος.
20-2 s	135-150	Υπερυψηλή Παστερίωση	

*Συνθήκες θερμικής επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται στην γαλακτοβιομηχανία για την παραγωγή γιαουρτιού

Αυτό όμως που παίζει σημαντικό ρόλο για την παραγωγή ενός επιθυμητού προϊόντος είναι, η εφαρμογή θερμοκρασίας πάνω από τους 80°C και για μεγάλη διάρκεια. Με αυτό τον τρόπο μεταβάλλονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες των καζεϊνών και μετουσιώνονται οι πρωτεΐνες ορού, όπου > 80% της β-Lg επηρεάζεται από τη θερμική επεξεργασία. Η β-Lg που έχει μετουσιωθεί δεσμεύεται από την κ-καζεΐνη και ότι έχει απομείνει αλληλοεπιδρά με την α-La. Η δράσεις αυτές έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους των καζεϊνών και τον σχηματισμό του πρωτεϊνικού πλέγματος, το οποίο με τη σειρά δημιουργεί ένα μαλακό και ομοιόμορφο πήγμα, που παρουσιάζει μεγάλη ικανότητα δέσμευσης του νερού. Επιπρόσθετα, η μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία του πηγματος σε υψηλότερο pH σε σχέση με το νωπό γάλα (Robinson & Haddadin 2010, Tamime & Robinson 2007).

Οι συνθήκες χρόνου-θερμοκρασίας επιφέρουν πολύ σημαντικές μεταβολές στις πρωτεΐνες του γάλακτος και συνεπώς είναι καθοριστικός ο ρόλος της θερμικής επεξεργασίας για την παραγωγή του γιαουρτιού. Συγκεκριμένα, η θέρμανση προκαλεί την απελευθέρωση κάποιων αμινοξέων από τις μετουσιωμένες πρωτεΐνες, τα οποία διεγείρουν τον μεταβολισμό της καλλιέργειας εκκίνησης για το σχηματισμό αρωματικών ενώσεων. Για παράδειγμα τα αμινοξέα μεθειονίνη και θρεονίνη αποτελούν υποστρώματα για τον σχηματισμό της ακεταλδεΐδης από τους

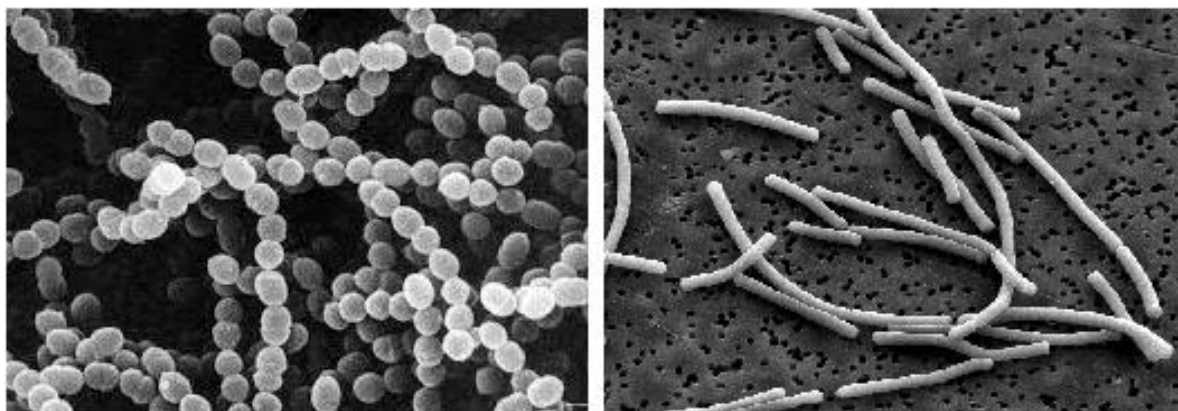
μικροοργανισμούς *S. salivarius* subsp. *thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, η οποία αποτελεί το βασικό συστατικό της παραδοσιακού αρώματος του γιαουρτιού. Επιπρόσθετα, η θέρμανση οδηγεί σε α) αποβολή του περιεχόμενου στο γάλα οξυγόνου, με αποτέλεσμα την καλύτερη λειτουργία των στελεχών της καλλιέργειας εκκίνησης και άρα στη δημιουργία των χαρακτηριστικών αρωματικών ενώσεων του γιαουρτιού, β) απενεργοποίηση μη σπορογόνων παθογόνων βακτηρίων, όπως η *Salmonella* και η *Escherichia coli*, γ) μείωση στον αριθμό των ζυμών και μυκήτων, οι οποίοι μπορεί να βρίσκονται στο νωπό γάλα και δύναται να δημιουργήσουν άρωμα παλαιωμένου προϊόντος ή πικρή γεύση (Robinson & Haddadin 2010) και γ) σε απενεργοποίηση ενζύμων, η παρουσία των οποίων μπορεί να οδηγήσει σε μη αποδεκτό άρωμα του τελικού προϊόντος, όπως για παράδειγμα ταγγή ή πικρή γεύση (Tamime & Robinson 2007).

2.2.6 ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ

Τα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά, κι αυτό εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την καλλιέργεια εκκίνησης. Οι καλλιέργειες εκκίνησης αποτελούνται από βακτήρια και κατηγοριοποιούνται ανάλογα με την βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης σε μεσόφιλα (20-30°C) και σε θερμόφιλα (40-45°C). Μπορούν επίσης να αποτελούνται από ένα στέλεχος βακτηρίου ή από πολλαπλά στελέχη. Για την παραγωγή του γιαουρτιού επιλέγεται καλλιέργεια εκκίνησης που αποτελείται από δύο θερμόφιλα στελέχη βακτηρίων, τα *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (βλ. **Εικόνα 2.1**) (Bylund 1995). Οι μικροοργανισμοί αυτοί έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται μεμονωμένα αλλά να δρουν και συνεργιστικά όταν αναμιγνύονται. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα δύο είδη μικροοργανισμών είναι σε θέση να ανταλλάσσουν μεταβολίτες, οι οποίοι διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό της καλλιέργειας (Benozzi et al. 2015).

Οι εμπορικές καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται σε βιομηχανικό επίπεδο βρίσκονται συνήθως σε υγρή μορφή, σε μορφή σκόνης που έχει προέλθει από ξήρανση υπό συνθήκες κατάψυξης ή συμπυκνωμένη σε συνθήκες κατάψυξης (Robinson & Haddadin 2010) και η παρασκευή της καλλιέργειας αποτελεί μια από τις πιο δύσκολες και σημαντικές διεργασίες στην γαλακτοβιομηχανία. Γι' αυτό το λόγο πρέπει να δίνεται πολύ μεγάλη προσοχή στην επιλογή της τεχνολογίας και του εξοπλισμού παραγωγής, καθώς και στην υγιεινή του χώρου παραγωγής. Η πιθανότητα επιμόλυνσης από ζύμες, μύκητες ή βακτηριοφάγους πρέπει να είναι ελάχιστη έως μηδενική. Πρέπει το σύστημα καθαρισμού του εξοπλισμού να είναι ορθά σχεδιασμένο, έτσι ώστε να μην αφήνει υπολείμματα καθαριστικών στο σύστημα, για να μην έρχονται σε επαφή με την καλλιέργεια και την επιμολύνουν.

Κατά την επώαση της καλλιέργειας εκκίνησης στο γάλα, τα βακτήρια ξεκινάνε και πολλαπλασιάζονται και προκαλούν τον μεταβολισμό της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ. Για την παραγωγή του γιαουρτιού οι δύο μικροοργανισμοί συνυπάρχουν στο γάλα, και μαζί αναπτύσσουν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού, όπως το pH, τη γεύση, το άρωμα και τη συνοχή (Bylund 1995).



Εικόνα 2. 1 Οι μικροοργανισμοί *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Σήμερα, γίνεται χρήση κι άλλων ειδών καλλιέργειας εκκίνησης, όπως για παράδειγμα αυτές που περιέχουν υπερβιοτικούς μικροοργανισμούς. Αυτές οι καλλιέργειες περιέχουν στελέχη των μικροοργανισμών *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* που προέρχονται από το ανθρώπινο έντερο, μαζί με τον μικροοργανισμό *S. thermophilus*, για ταχύτερο μεταβολισμό της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ. Η επιλογή των ειδών/ στελεχών των μικροοργανισμών, η αναλογία στην οποία βρίσκονται, ο ρυθμός της ζύμωσης καθώς και η θερμοκρασία καθορίζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Robinson & Haddadin 2010). Επίσης, τα στελέχη ενός μεγάλου αριθμού εμπορικών καλλιεργειών εκκίνησης παράγεται μέσω ορισμένων εξωκυτταρικών πολυσακχαριτών, οι οποίοι προκαλούν αύξηση του φαινομένου ιξώδους, και συνεπώς οδηγούν σε βελτίωση της σταθερότητας του ζυμωμένου προϊόντος (Tamime & Robinson 2007).

2.2.7 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΖΥΜΩΣΗΣ

Η θερμοκρασία στην οποία θα πραγματοποιηθεί η ζύμωση παίζει καθοριστικό ρόλο στις φυσικοχημικές ιδιότητες και στη μικροδομή του τελικού προϊόντος. Η θερμοκρασία της ζύμωσης συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 41-43°C και πραγματοποιείται για 4-5 h, ανάλογα με την καλλιέργεια εκκίνησης που χρησιμοποιείται, το ποσοστό και το ρυθμό προσθήκης της στο γάλα και τη σύσταση του γάλακτος. Εναλλακτικά, το πήγμα μπορεί να σχηματισθεί και σε συνθήκες θερμοκρασίας που μπορεί να φτάνουν τους 27-30°C, όμως απαιτείται πολύ μεγαλύτερος χρόνος ζύμωσης, περίπου 12-16 h.

Η τυπική θερμοκρασία επώασης είναι στους 42°C, όμως όταν χρησιμοποιηθεί χαμηλότερη θερμοκρασία τότε ο χρόνος επώασης αυξάνεται, αλλά το πήγμα είναι πιο σφικτό στην περίπτωση του γιαουρτιού τύπου σετ και πιο παχύρευστο στην περίπτωση του ανακατεμένου τύπου και μειώνεται το φαινόμενο της συναίρεσης (Lee & Lucey 2003). Αντίθετα, όταν η διαδικασία

πραγματοποιείται σε υψηλότερες θερμοκρασίες, τα πρωτεϊνικά πλέγματα είναι ασθενέστερα και παράλληλα σχηματίζονται μεγάλοι πόροι, με αποτέλεσμα μεγαλύτερο διαχωρισμό του ορού (Lucey 2001).

Για τις περιπτώσεις του γιαουρτιού ανακατεμένου τύπου και των πόσιμων επιδορπίων γιαουρτιού, έχει προταθεί και η εναλλακτική ζύμωση με συνεχή ανάδευση, προκειμένου να διασφαλίζεται ομοιογενής κατανομή της θερμοκρασίας μέσα στο δοχείο όπου πραγματοποιείται η ζύμωση. Αποτέλεσμα αυτής της διεργασίας είναι η ταχύτερη πτώση της τιμής του pH, η οποία συνοδεύεται και με μεγαλύτερη αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Από την οργανοληπτική αξιολόγηση, τα πήγματα που παράγονται από ζύμωση υπό ανάδευση φαίνεται να εμφανίζουν ελαφρώς χαμηλότερες τιμές ρεολογικών ιδιοτήτων, οι οποίες όμως είναι δυνατόν να βελτιωθούν με τη χρήση κάποιου πηκτικού παράγοντα, ενώ δεν επηρεάζεται το άρωμα των τελικών προϊόντων, όπως προκύπτει από την οργανοληπτική αξιολόγηση των δειγμάτων (Aguirre-Ezkauriatza et al. 2008).

2.2.8 ΨΥΞΗ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Η παραγωγή του γιαουρτιού είναι μια βιολογική διεργασία και η ψύξη είναι η πιο δημοφιλής μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της μεταβολικής δράσης της καλλιέργειας εκκίνησης και των ενζύμων. Η ψύξη ξεκινάει, όταν το pH του πηγματος φτάσει στο επιθυμητή τιμή (~4,6-4,7). Από τη στιγμή που η μικροοργανισμοί του γιαουρτιού αναπτύσσονται ελάχιστα κάτω από τους 10°C, ο πρωταρχικός στόχος είναι η πτώση της θερμοκρασίας του πηγματος από τους 30-45°C (ανάλογα με τις συνθήκες ζύμωσης) σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 10°C (βέλτιστη θερμοκρασία ~5°C) όσο το δυνατό ταχύτερα, προκειμένου να επιβραδύνεται η μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης, η οποία θα οδηγούσε σε υπερβολική παραγωγή γαλακτικού οξέος και συνεπώς σε μη αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, κυρίως αρώματος και γεύσης (Tamime & Robinson 2007).

Για το γιαούρτι τύπου σετ, πρέπει κατά το στάδιο της ψύξης να λαμβάνεται προσοχή, ώστε να αποφεύγονται οποιεσδήποτε δονήσεις στη συσκευασία, κυρίως σε περιπτώσεις όπου η επώαση και η ψύξη δεν πραγματοποιούνται στους ίδιους κλιβάνους, καθώς στο τέλος της ζύμωσης τα πήγματα είναι ακόμα ιδιαίτερα ευαίσθητα και θα μπορούσε να δημιουργηθεί θραύση τους με επακόλουθη συναίρεση. Για τη ψύξη του γιαουρτιού τύπου σετ απαιτείται μία αρχική πτώση της θερμοκρασίας στους περίπου 35°C σε χρονικό διάστημα 30 min και μία επακόλουθη πτώση στους 18-20°C σε επιπλέον 30-40 min. Η απόδοση της ψύξης επηρεάζεται από το μέγεθος, το σχήμα και το υλικό του κυπέλλου, το σημείο στο οποίο βρίσκεται η συσκευασία μέσα στον κλίβανο ψύξης, την απόσταση μεταξύ των μεμονωμένων κυπέλλων σε κάθε τελάρο αλλά και τα χαρακτηριστικά του τελάρου (Tamime & Robinson 2007).

Για το γιαούρτι ανακατεμένου τύπου, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη δύο παράμετροι ελέγχου κατά την ψύξη του τελικού πηγματος. Η πρώτη παράμετρος αφορά στην επιλογή των

κατάλληλων συνθηκών ανάδευσης προκειμένου να διαρρηχθεί το πήγμα και να δημιουργηθεί ένα προϊόν με κρεμμώδη υφή και επιθυμητή συνοχή και η δεύτερη αφορά στο χρόνο-θερμοκρασιακό προφίλ που θα ακολουθηθεί κατά την ψύξη (Bylund 1995).

2.2.9 ΣΤΑΔΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΕΡΓΟΣΤΑΣΙΑΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

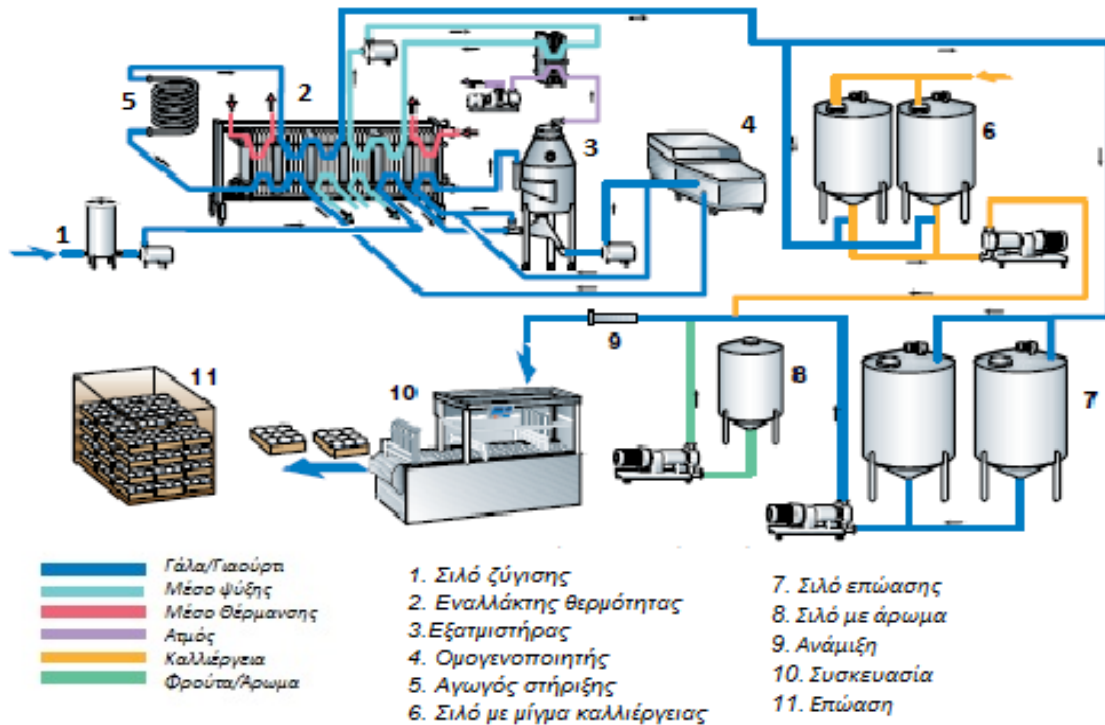
Η ποιότητα του γιαουρτιού, όσον αφορά στην υφή και το άρωμα εξαρτάται από το σχεδιασμό της μονάδας παραγωγής, τα στάδια επεξεργασίας του γάλακτος και την επεξεργασία του τελικού προϊόντος. Το πήγμα που προκύπτει από τη ζύμωση του γάλακτος είναι αρκετά εύθραυστο στη μηχανική καταπόνηση. Γι' αυτό το λόγο είναι πολύ σημαντική η σωστή επιλογή σωληνώσεων, βαλβίδων, αντλιών, ψυκτών, κ.ά. κατά τον σχεδιασμό του βιομηχανικού εξοπλισμού. Οι σύγχρονες βιομηχανικές εγκαταστάσεις είναι σχεδιασμένες για να μπορέσουν να ανταπεξέλθουν στην μεγάλη ζήτηση, στη συνεχή επεξεργασία και στην επίτευξη της υψηλής ποιότητας του τελικού προϊόντος. Έτσι, είναι πολύ σημαντική η επιλογή του σωστού εξοπλισμού, για να μπορέσει η γαλακτοβιομηχανία να βρει την ισορροπία μεταξύ κόστους και ποιότητας.

Στις σύγχρονες μονάδες παραγωγής, η παραγωγή του γιαουρτιού τύπου σετ και ανακατεμένου τύπου μπορεί να γίνεται ταυτόχρονα. Κατά την παραγωγή του γιαουρτιού τύπου σετ, η ροή του γάλακτος ελέγχεται συνεχώς, από το σημείο εκκίνησης της παραγωγής έως την συσκευασία. Ομοίως και για το ανακατεμένο γιαούρτι, όμως μέχρι το σημείο που το γάλα εισέρχεται στα σιλό επώασης, όπου εκεί προστίθεται η καλλιέργεια εκκίνησης. Ο έλεγχος της ροής του γάλακτος διακόπτεται μόνο από την χρονική περίοδο που λαμβάνει χώρα η ζύμωση, κατά την οποία το προϊόν πρέπει να αφήνεται σε ηρεμία.

Στην **Εικόνα 2.2** φαίνεται η γραμμή παραγωγής του γιαουρτιού τύπου σετ. Συγκεκριμένα, γάλα αφού έχει περάσει από τον ομογενοποιητή (4) και τον εναλλάκτη θερμότητας για τη θερμική επεξεργασία (2), έρχεται στη θερμοκρασία επώασης και εισέρχεται μέσω αντλιών στα σιλό με την καλλιέργεια εκκίνησης (6) και στη συνέχεια στα σιλό επώασης (7). Στο μίγμα μπορεί να προστεθεί άρωμα (8) πριν συσκευαστεί (9). Αφού το μίγμα συσκευαστεί λαμβάνει χώρα η διαδικασία της επώασης μέσα στα κύπελλα (11).

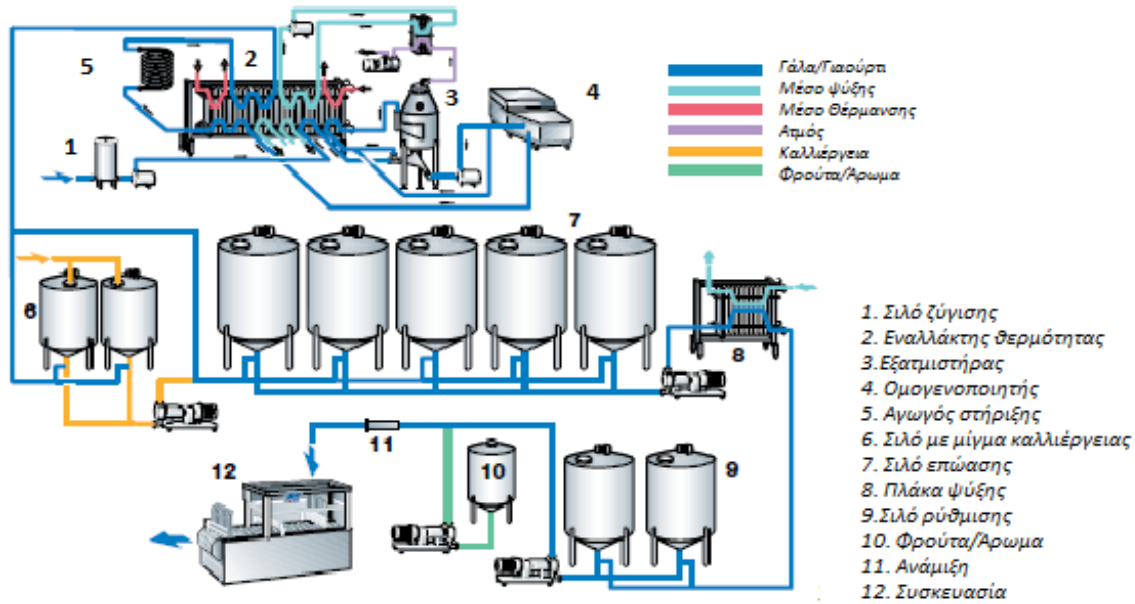
Αντίστοιχα στην **Εικόνα 2.3** φαίνεται η γραμμή παραγωγής του γιαουρτιού ανακατεμένου τύπου. Για εξοικονόμηση πόρων είναι δυνατή η χρήση του ίδιου εξοπλισμού με αυτόν του γιαουρτιού τύπου σετ, τουλάχιστο μέχρι το σημείο προσθήκης της καλλιέργειας. Αφού το γάλα εμβολιαστεί με την καλλιέργεια εκκίνησης (6), εισέρχεται στα σιλό επώασης (7) που είναι σε σειρά. Όταν γεμίσουν τα σιλό, τότε ξεκινάει ήπια ανάδευση, για να γίνει ομοιόμορφη διανομή της καλλιέργειας στο μίγμα. Τα σιλό επώασης είναι μονωμένα, για να μην υπάρχουν απώλειες θερμότητας, και είναι συνδεδεμένα με συσκευές μέτρησης του pH για να ελέγχεται η αυξανόμενη οξύτητα στο μίγμα. Για μια τυπική παραγωγή γιαουρτιού ανακατεμένου τύπου, η επώαση διαρκεί 2,5-3 h και πραγματοποιείται σε θερμοκρασία 42-43°C. Στο τελικό στάδιο της ζύμωσης, το πήγμα ψύχεται στους 15-22°C για να σταματήσει η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, ενώ ταυτόχρονα

αναδεύεται ήπια για να έχει το τελικό προϊόν την σωστή σύσταση. Όσον αφορά στην προσθήκη φρούτων ή αρώματος, αυτή πραγματοποιείται στο τελικό στάδιο του γεμίσματος των κυπέλλων.

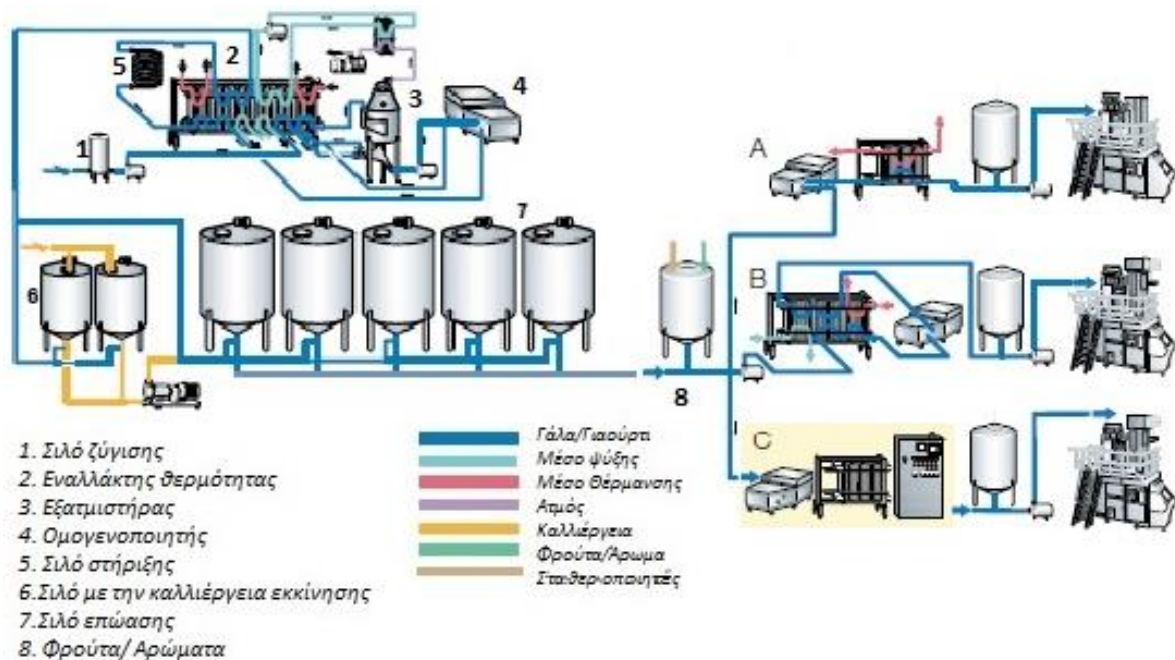


Εικόνα 2. 2 Γραμμή παραγωγής γιαουρτιού τύπου σεντ (Bylund 1995)

Στην **Εικόνα 2.4** παρουσιάζονται οι πιθανές γραμμές παραγωγής του πόσιμου γιαουρτιού. Η διαδικασία παραγωγής του πόσιμου γιαουρτιού είναι παρόμοια με αυτή του ανακατεμένου έως το στάδιο 7. Αφού το μίγμα ζυμωθεί, τότε αναδεύεται έως ότου διαρρηχθεί το πήγμα και στο στάδιο αυτό προστίθενται οι σταθεροποιητές και το άρωμα. Στην συνέχεια, μπορεί (Α) το μίγμα να ομογενοποιηθεί, να ψυχθεί και να συσκευαστεί, (Β) να ομογενοποιηθεί, να παστεριωθεί και να συσκευαστεί υπό ασηπτικές συνθήκες και, (C) να ομογενοποιηθεί, να υποστεί υπερυψηλή παστερίωση και να συσκευαστεί υπό ασηπτικές συνθήκες.

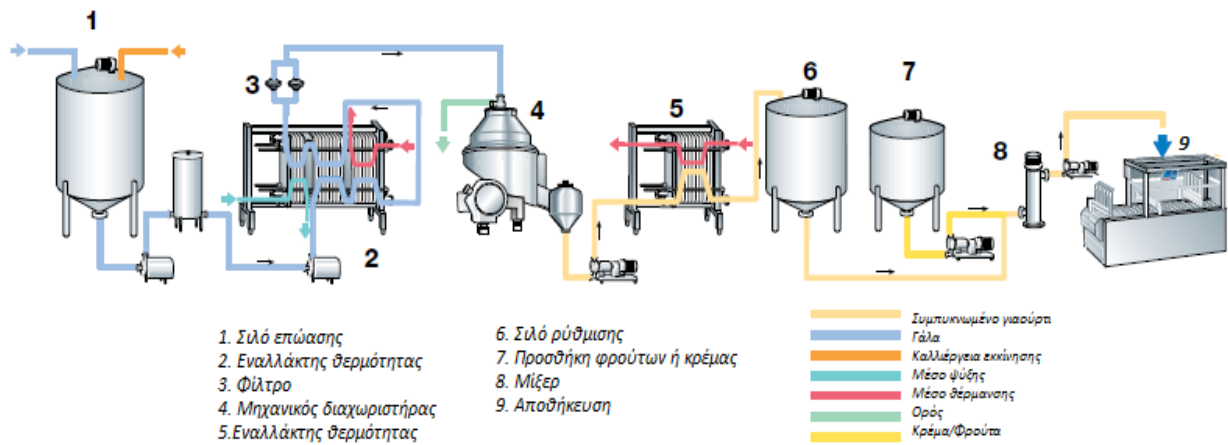


Εικόνα 2. 3 Γραμμή παραγωγής του γιαουρτιού ανακατεμένου τύπου (Bylund 1995)



Εικόνα 2. 4 Γραμμές παραγωγής πόσιμου/ρευστού γιαουρτιού: (Α) ομογενοποίηση μίγματος, ψύξη και συσκευασία, (Β) θερμική επεξεργασία, ομογενοποίηση, ψύξη και συσκευασία και (Γ) θερμική επεξεργασία σε συνθήκες UHT και συσκευασία υπό ασηπτικές συνθήκες (Bylund 1995)

Στην **Εικόνα 2.5** παρουσιάζεται η γραμμή παραγωγής του στραγγιστού γιαουρτιού. Ομοίως με το ανακατεμένο, η επεξεργασία του γάλακτος πραγματοποιείται με τον ίδιο τρόπο. Από τη στιγμή, όμως που το γάλα εμβολιάζεται και εισέρχεται στο σιλό επώασης (1), η διαδικασία διαφέρει πολύ. Μετά το σιλό επώασης, το γάλα αναδεύεται για να διαρρηχθεί το πήγμα, και στη συνέχεια θερμαίνεται (2) στους 60°C. Το διερρηγμένο πήγμα φιλτράρεται, και εισέρχεται στο μηχανικό διαχωριστήρα (3) για τον διαχωρισμό της στερεής με την υγρή φάση. Το συμπυκνωμένο προϊόν ψύχεται στους 40°C και εισέρχεται στο σιλό ρύθμισης. Στο τελικό στάδιο της διεργασίας, προστίθεται στο συμπυκνωμένο ή αλλιώς στραγγιστό γιαούρτι κρέμα ή φρούτα (7) και αναμιγνύονται σε μίξερ (8) πριν συσκευαστούν (Tamime & Robinson 2007).



ΕΙΚΟΝΑ 2.5 Γραμμή παραγωγής στραγγιστού γιαουρτιού (Bylund 1995)

2.3 ΝΕΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Υπάρχει ένα πολύ μεγάλο ενδιαφέρον γύρω από την θρεπτική αξία του γιαουρτιού, αλλά η υφή του γιαουρτιού είναι αυτή που παίζει καθοριστικό ρόλο για την αποδοχή από το καταναλωτικό κοινό. Με αυτό το δεδομένο, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες για την βελτίωση του τελικού πηγματος και τις σφικτότητας του, την μείωση του φαινομένου της συναίρεσης και τη μείωση του χρόνου ζύμωσης. Κατά καιρούς έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι για την βελτίωση αυτών των χαρακτηριστικών. Κάποιες από αυτές είναι:

- Η χρήση υδροκολλοειδών, όπως η ζελατίνη, η πηκτίνη, η καρραγενάνη και το άμυλο. Ωστόσο, οι σταθεροποιητές κάποιες φορές επιφέρουν ανεπιθύμητο άρωμα ή/και γεύση στο τελικό προϊόν, και αποκλίνουν από τον όρο «καθαρή ετικέτα». Επιπλέον, οι τύποι και οι ποσότητες των σταθεροποιητών που επιτρέπεται να προστίθενται στο γιαούρτι

ποικίλει από χώρα σε χώρα, οπότε και δημιουργείται πρόβλημα στις εξαγωγές των προϊόντων.

- Η χρήση συμπυκνωμάτων αποβουτυρωμένου γάλακτος, πρωτεϊνών ορού, και καζεϊνών για τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του γιαουρτιού. Ωστόσο, ο εμπλουτισμός του γάλακτος με αυτά τα συστατικά είναι μια αρκετά ακριβή διαδικασία, η οποία επιβαρύνει το συνολικό κόστος της παραγωγής.
- Οι εναλλακτικές επεξεργασίες αποτελούν μια ελκυστική επιλογή σε σχέση με τη χρήση υδροκολλοειδών ή τον εμπλουτισμό με συμπυκνώματα, τόσο από την πλευρά του καταναλωτή, όσο και από την πλευρά του παραγωγού, αφού μειώνεται η χρήση ακριβών προσθέτων. Πλέον υπάρχουν αρκετές καινοτόμες μέθοδοι που μπορούν να εφαρμοστούν είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό, για να βελτιωθεί η υφή και η σταθερότητα του τελικού προϊόντος (Loveday et al. 2013).

2.3.1 ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Η ομογενοποίηση αποτελεί ένα πολύ βασικό στάδιο στην επεξεργασία του γάλακτος και εφαρμόζεται από τις αρχές του 20ού αιώνα. Η συνήθης διεργασία λαμβάνει χώρα έως τα 30 MPa, αλλά τα τελευταία χρόνια έχει προταθεί η χρήση πιέσεων έως 400 MPa. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται μεγαλύτερη ομοιομορφία στο μέγεθος των λιποσφαιριδίων και μερική μετουσίωση των πρωτεϊνών, ενώ ταυτόχρονα απενεργοποιούνται τα ένζυμα και οι μικροοργανισμοί (Huppertz 2011). Πιο συγκεκριμένα, η ομογενοποίηση με υπερυψηλή πίεση (High Pressure Homogenization, HPH) μειώνει δραματικά το μέγεθος των λιποσφαιριδίων, και οδηγεί σε προσρόφηση των καζεϊνών και κάποιων πρωτεϊνών ορού στην επιφάνεια των λιποσφαιριδίων, το οποίο επιτρέπει στα λιποσφαιρίδια να συμμετέχουν στο πρωτεϊνικό πλέγμα κατά το σχηματισμό του πηγματος (Titarecchio, Corredig & Alexander 2011).

Η HPH έχει τη δυναμική να βελτιώνει την υφή και την αίσθηση του λίπους στα γιαούρτια χαμηλών λιπαρών, όμως στα γιαούρτια χωρίς λίπος έχει επιβλαβή αποτελέσματα όσον αφορά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους. Για παράδειγμα, στην περίπτωση του ανακατεμένου γιαουρτιού, η επίδραση της HPH στο περιεχόμενο λίπος ήταν εμφανής. Η υφή του ανακατεμένου γιαουρτιού χωρίς λιπαρά επηρεάστηκε αρνητικά σε σχέση με αυτό που είχε υποστεί την συμβατική ομογενοποίηση (control), ενώ σε αυτό με χαμηλά λιπαρά, η τελική υφή έμοιαζε με αυτή του δείγματος αναφοράς (Ciron 2010). Οι διαφορές στη ρεολογία του τελικού προϊόντος ήταν εμφανείς και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, διότι το γιαούρτι χωρίς λιπαρά παρουσίασε μη επιθυμητά χαρακτηριστικά, ενώ το γιαούρτι χαμηλών λιπαρών παρουσίασε όλα τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως η κρεμώδης υφή, η λεία επιφάνεια και η συνοχή. Στην περίπτωση του γιαουρτιού τύπου σεν, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων που είχαν επεξεργαστεί με HPH δεν παρουσίασαν τόσο μεγάλες αποκλίσεις σε σχέση με τα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με τη συμβατική μέθοδο ομογενοποίησης (Patrignani et al. 2009).

2.3.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Οι πρώτες μελέτες για τη χρήση της τεχνολογίας της Υπερυψηλής Πίεσης (ΥΠ) ξεκίνησαν από το 19^ο αιώνα, αλλά ανήκει στην κατηγορία των «καινοτόμων τεχνολογιών», διότι μόλις τα τελευταία χρόνια άρχισε να χρησιμοποιείται σε μεγάλης κλίμακας παραγωγές (Hurrpertz & de Kruijff 2006). Η τεχνολογία της ΥΠ χρησιμοποιείται σήμερα για την επεξεργασία ενός μεγάλου εύρους τροφίμων, όπως το κρέας, τα λαχανικά, τους φρέσκους χυμούς, τα αναψυκτικά και τα θαλασσινά, με σκοπό την αύξηση της διάρκειας ζωής τους. Παρόλο που έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες για την επίδραση της ΥΠ στα συστατικά του γάλακτος, η τεχνολογία αυτή δεν έχει βρει ακόμα βιομηχανική εφαρμογή για την παραγωγή του γιαουρτιού.

Η τεχνολογία της ΥΠ επηρεάζει σημαντικά τις φυσικοχημικές ιδιότητες των πρωτεϊνών του γάλακτος και βελτιώνει τις λειτουργικές τους ιδιότητες. Στο Κεφάλαιο 4 θα γίνει εκτενής περιγραφή της μεθόδου και της επίδρασης της στα συστατικά αλλά και στα χαρακτηριστικά του γάλακτος. Η εφαρμογή της ΥΠ κατά την παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε στο μίγμα του γάλακτος, είτε στο πηγμένο προϊόν. Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η χρήση της τεχνολογίας της ΥΠ στο μίγμα του γάλακτος και η επίδρασή της στα ποιοτικά, φυσικοχημικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού τύπου σετ, όπως περιγράφεται στο 5^ο και 6^ο Κεφάλαιο.

2.3.3 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ

Η επεξεργασία με υπερήχους αποτελεί μια αναδυόμενη τεχνολογία για την επεξεργασία υγρών τροφίμων, ως υποκατάστατο της θερμικής επεξεργασίας. Υπάρχουν δύο ευρείς κατηγορίες υπερήχων ανάλογα με την συχνότητα που χρησιμοποιείται: υψηλή συχνότητα (2-10 MHz) και χαμηλή συχνότητα (20-100 kHz) (Barbosa-Canovas & Bermudez- Aguirre 2010). Η τεχνολογία των υπερήχων είναι χρήσιμη στην επεξεργασία τροφίμων για την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών και την διαταραχή της δομής των σωματιδίων στο υγρό τρόφιμο. Η επεξεργασία με υπερήχους αποτελεί μια «καινοτόμο» τεχνολογία που μπορεί να αντικαταστήσει την θερμική επεξεργασία αλλά και το στάδιο της ομογενοποίησης σε μια ενιαία μονάδα λειτουργίας (Bermudez-Aguirre et al. 2009).

Έρευνες έχουν δείξει, ότι η επεξεργασία του γάλακτος με υπερήχους, πιθανόν μεταβάλλει τη δευτεροταγή δομή των πρωτεϊνών του γάλακτος δημιουργώντας στη συνέχεια συσσωματώματα, είτε μεταξύ των μορίων των πρωτεϊνών ορού είτε μεταξύ αυτών και των καζεϊνών. Η εφαρμογή των υπερήχων στο γάλα φαίνεται να αυξάνει ταυτόχρονα και τη θερμοκρασία του γάλακτος, σε επίπεδα ικανά να προκαλέσουν τέτοιου είδους αλλαγές στα πρωτεϊνικά μόρια, οδηγώντας έτσι σε σταθερά πρωτεϊνικά πλέγματα και σε αύξηση του ιξώδους των παραγόμενων όξινων πηγμάτων (Ashokkumar et al. 2008).

Γενικά, η επίδραση της τεχνολογίας των υπερήχων στην χημεία του γάλακτος είναι μεγάλη και πολύπλοκη, και εξαρτάται από την θερμοκρασία που τη συνοδεύει αλλά και από το περιεχόμενο σε λιπαρά (Renier et al. 2009). Οι κύριες επιδράσεις αυτής της τεχνολογίας σε όξινα πηγμάτα είναι η μείωση του φαινομένου της συναίρεσης, μεγάλη μείωση στο μέγεθος των λιποσφαιριδίων και βελτίωση της υφής, τόσο σε προϊόντα γιαουρτιού χαμηλής όσο και υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Το μόνο πλεονέκτημα είναι ότι η εφαρμογή της μεθόδου γίνεται μόνο σε εργαστηριακή κλίμακα, και αυτό σε μικρό βαθμό (Loveday et al. 2013).

2.3.4 ΧΡΗΣΗ ENΖΥΜΩΝ

Η ενζυμική τροποποίηση της λειτουργικότητας των πρωτεϊνών των τροφίμων αποτελεί μια χρήσιμη μέθοδο λόγω της υψηλής επιλεκτικότητας που εμφανίζουν οι ενζυμικές αντιδράσεις, αλλά και της μείωσης του ενδεχόμενου εμφάνισης τοξικών παραπροϊόντων. Το πιο δημοφιλές ένζυμο στην βιομηχανία τροφίμων, που έχει παρουσιάσει θετική επίδραση τόσο στην υφή όσο και στη διατροφική αξία των τροφίμων, είναι η τρανσγλουταμινάση (Loveday et al. 2013). Το ένζυμο αυτό παρουσιάζεται αναλυτικά στο 3^ο Κεφάλαιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας, ενώ στο 5^ο και στο 6^ο Κεφάλαιο, παρουσιάζεται η επίδραση της τρανσγλουταμινάσης στα ποιοτικά, φυσικοχημικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού τύπου σετ.

3.ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα ένζυμα είναι πρωτεΐνες με ισχυρή καταλυτική δραστηριότητα. Συντίθενται από βιολογικά κύτταρα και είναι παρόντα σε όλους το οργανισμούς, διότι συμμετέχουν στις σχετικές με το μεταβολισμό χημικές αντιδράσεις. Τα ένζυμα έχουν ένα σημαντικό ρόλο στη βιομηχανία τροφίμων τόσο σε παραδοσιακά όσο και σε νέα προϊόντα. Ενζυμικά καταλυόμενες αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα σε πολλά τρόφιμα, υποβαθμίζοντας ή βελτιώνοντας την ποιότητα τους. Μερικά παραδείγματα της δράσης των ενζύμων είναι η ωρίμανση των φρούτων και των λαχανικών, το σίτεμα του κρέατος, οι διαδικασίες της ωρίμανσης και της παρασκευής του τυριού, η παραγωγή του γιαουρτιού καθώς και η παραγωγή αλκοολούχων ποτών με την τεχνολογία της ζύμωσης. Οι καταλυτικές ιδιότητες των ενζύμων παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον, δεδομένου ότι τα ένζυμα είναι διαθέσιμα σε μεγάλες ποσότητες και μπορούν να αποτελέσουν δείκτες για την επεξεργασία που έχουν υποστεί τα τρόφιμα (Belitz et al. 2009).

Τα τρόφιμα αποτελούν πολυσύνθετα υλικά με πολύπλοκη δομή και υφή, και οι πρωτεΐνες αποτελούν τη βασική δομική τους ομάδα, αλλά και το βασικό συστατικό για την ανθρώπινη διατροφή. Οι πρωτεΐνες που είναι παρούσες στα τρόφιμα χρησιμοποιούνται πολλές φορές ως λειτουργικά συστατικά, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τα χαρακτηριστικά υφής και τη σταθερότητα των προϊόντων. Η δομή των πρωτεϊνών μπορεί να μεταβληθεί χημικά, φυσικά ή ενζυμικά. Η ενζυμική επεξεργασία έχει προταθεί ως μία χρήσιμη μέθοδος για την τροποποίηση των πρωτεϊνικών πλεγμάτων, και συγκεκριμένα τη διασύνδεση των πρωτεϊνών, λόγω της υψηλής εξειδίκευσης των ενζυμικών αντιδράσεων και του χαμηλού ποσοστού ρίσκου σχηματισμού τοξικών παραπροϊόντων (Özrenk 2006). Η διασύνδεση των πρωτεϊνικών πλεγμάτων με τη χρήση ενζύμων είναι μια μέθοδος που έχει λάβει πολύ προσοχή τα τελευταία 20 χρόνια. Προς το παρόν, το μόνο εμπορικά διαθέσιμο ένζυμο που έχει τη δυνατότητα να σχηματίζει ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ των πρωτεϊνών και κατά συνέπεια τρισδιάστατα πρωτεϊνικά πλέγματα, είναι η τρανσγλουταμινάση (Dickinson & Bergenthal 1997).

3.2 ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ (TRANSGLUTAMINASE, TGASE)

Η τρανσγλουταμινάση (TGase) αποτελεί είναι ένζυμο που βρίσκεται σε διάφορους ζώντες οργανισμούς και συνεισφέρει σε ένα μεγάλο εύρος βιολογικών λειτουργιών όπως η πήξη του αίματος και η επούλωση των τραυμάτων. Η TGase ανήκει στην ενζυμική τάξη EC 2.3.2.13⁵ και η επίσημη ονομασία της είναι πρωτεϊνική γ-γλουταμινική τρανσφεράση. Πρώτος την ανακάλυψε ο Heinrich Waelsch πριν από περίπου 50 χρόνια (Fesus & Piacentini 2002) και η ονομασία με την οποία είναι γνωστή σήμερα χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τους Clarke et al. (1957) για να περιγράψει την τρανσαμιδική δράση στο συκώτι των ινδικών χοιριδίων.

Η TGase ανήκει στην κατηγορία των τρανσφερασών και καταλύει μία σειρά από αντιδράσεις (**Εικόνα 3.1**). Συγκεκριμένα, καταλύει την αντίδραση μεταφοράς ακυλίου μεταξύ της γ-καρβοξυ-αμιδικής ομάδας της πεπτιδικά δεσμευμένης γλουταμίνης, η οποία είναι δότης ακυλίων, και των πρωτοταγών αμινών που αποτελούν τους δέκτες, συμπεριλαμβανομένης και της πεπτιδικά δεσμευμένης λυσίνης (1). Αποτέλεσμα αυτής της διασύνδεσης μεταξύ δεσμευμένης γλουταμίνης και υποστρωμάτων λυσίνης των πρωτεϊνών είναι ο σχηματισμός πεπτιδικού δεσμού, η δημιουργία ενδο- και διαμοριακών δεσμών και η δημιουργία βιοπολυμερών υψηλού μοριακού βάρους. Εκτός από την αντίδραση της διασύνδεσης των πρωτεϊνών (πεπτιδικός δεσμός), η τρανσγλουταμινάση καταλύει και άλλες δύο αντιδράσεις, την ενσωμάτωση αμινών (2) και την απαμίνωση (3). Σε περίπτωση απουσίας αμινικού υποστρώματος η TGase καταλύει την αντίδραση της απαμίνωσης χρησιμοποιώντας μόρια νερού ως δέκτες ακυλίων (Özrenk 2006, Motoki & Seguro 1998).

3.2.1 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΗΣ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗΣ

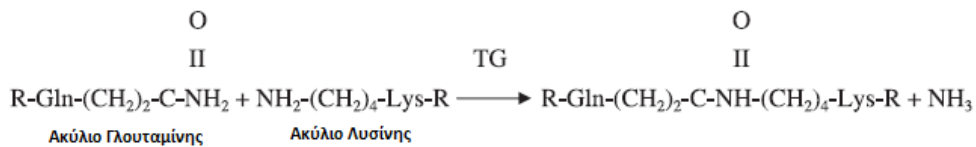
Η έρευνα για τις εφαρμογές της TGase ξεκίνησε με την απομόνωση του ενζύμου από τους ιστούς και τα σωματικά υγρά των θηλαστικών (Folk & Cole 1966), των ψαριών (Yasueda et al. 1995), των φυτών (Falcone et al. 1993), καθώς και από ορισμένους μικροοργανισμούς (Ando et al. 1989). Το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο ένζυμο TGase ήταν από το ήπαρ των ινδικών χοιριδίων (Guinea pig liver TGase, GTGase), και ήταν το μοναδικό μέχρι τα τέλη του 1980. Παρόλο που εκείνη την εποχή άρχισε να συζητιέται η χρήση ενισχυτικών προσθέτων στα τρόφιμα, λόγω της περιορισμένης πηγής προέλευσης και της εκτενούς διαδικασίας απομόνωσης και καθαρισμού της GTGase, η τιμή της ήταν πολύ υψηλή, γεγονός που δεν την έκανε ελκυστική για βιομηχανική χρήση. Επίσης, η ενεργοποίηση της καταλυτικής δράσης της GTGase απαιτεί την ύπαρξη ιόντων ασβεστίου (Ca²⁺), το οποίο σε ορισμένα τρόφιμα, όπως εκείνα που περιέχουν καζεΐνες ή γλοβουλίνες σόγιας, οδηγεί σε καθίζηση των πρωτεϊνών (Jaros et al. 2006).

Η TGase που προέρχεται από το αίμα των θηλαστικών, συμμετέχει σε πολλά βιολογικά φαινόμενα, όπως στην πήξη του αίματος, στην επούλωση των πληγών και στην επιδερμική

⁵ Enzyme Commission number (EC number), Αριθμός Επιτροπής Ενζύμου: είναι μια αριθμητική κατηγοριοποίηση των ενζύμων που βασίζεται στις αντιδράσεις που καταλύουν

κερατινοποίηση. Ένα τυπικό παράδειγμα TGase, που αποτελεί ένα από τα πλέον μελετημένα ένζυμα και συμβάλλει στη λήξη της αιμορραγίας κατά την επούλωση πληγών, είναι ο παράγοντας XIII της αλληλουχίας αντιδράσεων της αιμόστασης (Yokoyama et al. 2004), και συνήθως απομονώνεται από το αίμα βοοειδών και χοίρων κατά τη σφαγή (Wilson 1992). Ωστόσο, ο παράγοντας XIII σπάνια χρησιμοποιείται στην βιομηχανία τροφίμων, διότι περιέχει μια πρωτεάση, την θρομβίνη, η οποία προσδίδει ένα χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα στο τελικό προϊόν, κάτι που δεν είναι πάντα επιθυμητό (Motoki & Seguro 1998).

1. Διασύνδεση Πρωτεϊνών



2. Ενσωμάτωση Αμινών



3. Απαμίνωση



Εικόνα 3. 1 Αντιδράσεις καταλυτικής δράσης της TGase: 1) διασύνδεση μεταξύ των ακυλίων γλουταμίνης-λυσίνης (ισοπεπτιδικός δεσμός), 2) μεταφορά ακυλομάδας/ενσωμάτωση αμινών, 3) απαμίνωση

Η TGase φυτικής προέλευσης συνήθως απομονώνεται από δενδρύλλια μπιζελιών (*Pisum sativum*), τις κορυφές των βλαστών του κονδυλώδη ηλίανθου (*Helianthus tuberosus*), το τριφύλλι, το χρυσάνθεμο και τα φύλλα σόγιας (Özrenk 2006).

Στα τέλη της δεκαετίας του 1980 εντοπίστηκε το ένζυμο της TGase στο μικροοργανισμό *Streptovercillium mobaraense* (ή *Streptomyces mobaraensis*). Αυτός ο τύπος TGase ονομάζεται μικροβιακής προέλευσης ή αλλιώς mTGase (microbial TGase) και συνήθως απομονώνεται από στελέχη του γένους *Streptovercillium* και *Streptomyces*, διότι έχουν την ικανότητα να παράγουν την TGase εξωκυτταρικά και συνεπώς, να την απελευθερώνουν στο θρεπτικό υλικό της ζύμωσης (Ando et al. 1989), γεγονός που κάνει την απομόνωση και τον καθαρισμό του ενζύμου μία αρκετά εύκολη και με χαμηλού κόστους διαδικασία (Jaros et al. 2006). Στην επόμενη παράγραφο, παραθέτονται οι κυριότερες βιβλιογραφικές αναφορές για την παραγωγή της mTGase που προορίζεται για βιομηχανική χρήση.

3.2.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ mTGase ΓΙΑ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

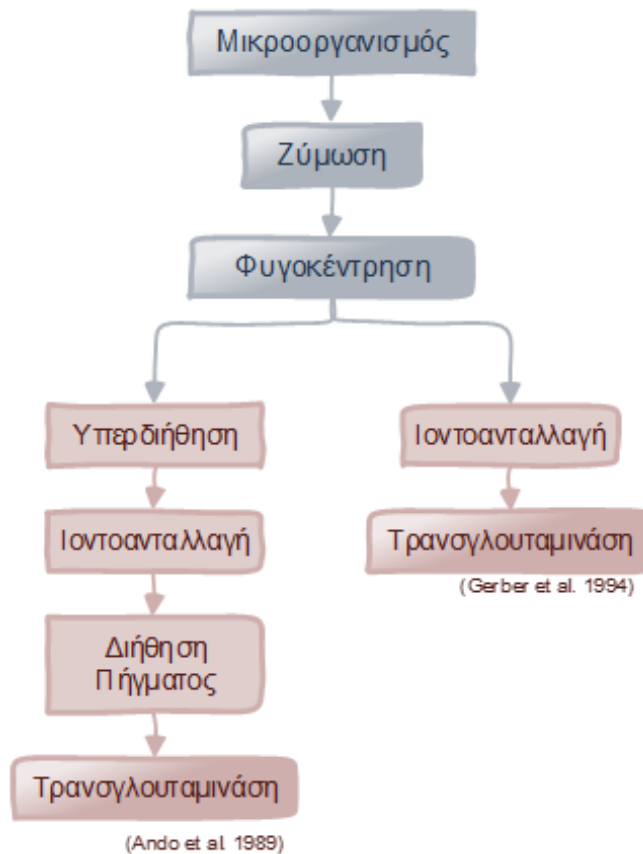
Εξαιτίας των πολλών προβλημάτων που παρουσίασε η παραγωγή της TGase ζωικής προέλευσης, έγιναν προσπάθειες παραγωγής του ενζύμου μέσω μικροβιακής ζύμωσης και γενετικής μηχανικής (Motoki & Seguro 1998). Αρχικά, έγινε προσπάθεια παραγωγής του ενζύμου, μέσω της πρακτικής της γενετικής μηχανικής, με τη χρήση μικροοργανισμών ξενιστών, όπως η *Escherichia coli* (Ikura et al. 1990, Yokoyama et al. 1998). Έγιναν αρκετές προσπάθειες που στόχευαν στην έκφραση του ενζύμου σε άλλους οργανισμούς, αλλά καμία δεν οδήγησε στη μαζική παραγωγή του ενζύμου κυρίως λόγω έλλειψης αποδοχής της κοινής γνώμης για τα συγκεκριμένα ενισχυτικά πρόσθετα στα τρόφιμα (Jaros et al 2006). Όμως το 1989, ύστερα από μελέτη 5000 στελεχών, εντοπίστηκε από τον Ando και την ομάδα του, το στέλεχος *Streptoverticillium S-8112*, το οποίο έχει την ικανότητα να παράγει την τρανσγλουταμινάση εξωκυτταρικά και συνεπώς να την απελευθερώνει στο θρεπτικό υλικό της ζύμωσης (Ando et al. 1989). Έτσι, προέκυψε η τρανσγλουταμινάση μικροβιακής προέλευσης (mTGase), η οποία αποτελεί ένα ένζυμο που μπορεί να ανακτηθεί εύκολα, μέσω του διαχωρισμού του θρεπτικού υλικού από τη στερεή μάζα της ζύμωσης χωρίς να είναι απαραίτητη η διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων (Yokoyama et al. 2004).

Τα βασικότερα πλεονέκτημα της mTGase έναντι της TGase ζωικής ή φυτικής προέλευσης, περιλαμβάνουν τον υψηλό καταλυτικό της ρυθμό, το μικρότερο μέγεθος, την ευρεία επιλεκτικότητα του υποστρώματος καθώς και τη μικρότερη δράση απαμίνωσης (Kashiwagi et al. 2002). Επιπλέον παρουσιάζουν χαμηλότερο κόστος και υψηλότερη απόδοση κατά την απομόνωση και τον καθαρισμό τους. Στον **Πίνακα 3.1** παρουσιάζονται τα στελέχη που έχουν μελετηθεί με στόχο την βελτιστοποίηση των μεθόδων παραγωγής του ενζύμου.

Πίνακας 3. 1 Μικροβιακά στελέχη που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της μικροβιακής τρανσγλουταμινάσης (Kieliszek & Misiewicz 2014)

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ	ΑΠΟΔΟΣΗ (Unit/mL)	ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ	ΑΠΟΔΟΣΗ (Unit/mL)
<i>Actinomadura</i> sp. T-2	-	<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	-
<i>Bacillus circulans</i> BL32	0,28	<i>Streptomyces lividans</i>	-
<i>Bacillus subtilis</i> spores	-	<i>Streptomyces lividans</i> JT46/pAE053	2,2
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i>	-	<i>Streptomyces lydicus</i>	1,3
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	-	<i>Streptomyces platensis</i>	1,4
<i>Enterobacter</i> sp. C2361	0,77	<i>Streptomyces sioyansis</i>	3,3
<i>Providencia</i> sp. C1112	0,92	<i>Streptoverticillium griseocarneum</i>	1,46
<i>Streptoverticillium mobaraense</i>	0,9-3,4	<i>Streptoverticillium ladakanum</i> NRRL-3191	0,28-1,55
<i>Streptomyces platensis</i> M5218	0,66	<i>Streptoverticillium</i> sp. s-8112	1,46

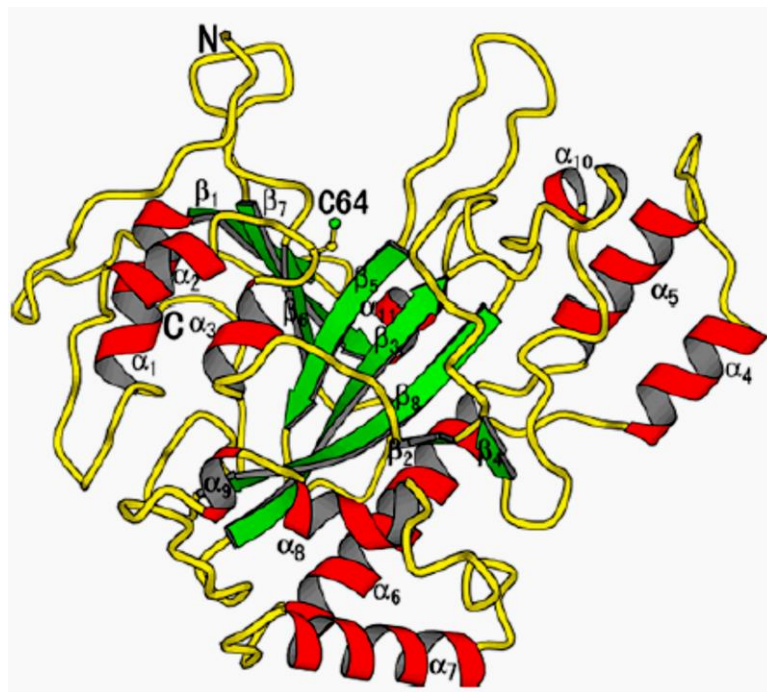
Η δράση της mTGase, σε αντίθεση με την TGase ζωικής προέλευσης, παρουσιάζει κι άλλα βασικά πλεονεκτήματα, όπως το γεγονός ότι είναι ανεξάρτητη από την παρουσία ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) και εμφανίζει μικρότερη εξειδίκευση υποστρώματος (Jaros et al 2006). Κατά τη διαδικασία της ζύμωσης για την παραγωγή της mTGase μπορούν να χρησιμοποιηθούν όλες οι κοινές πηγές άνθρακα (γλυκόζη, άμυλο κ.ά.) και αζώτου (NH_4NO_3 , NH_4Cl , ουρία, πεπτόνη, καζεΐνη κ.ά.) και απαραίτητα ανόργανα συστατικά και ιχνοστοιχεία (φώσφορος, μαγνήσιο, κάλιο, σίδηρος, και βιταμίνες). Η ζύμωση πραγματοποιείται υπό αναερόβιες συνθήκες και η βέλτιστη η θερμοκρασία για την ανάπτυξη του μικροοργανισμού και την παραγωγή του ενζύμου είναι μεταξύ 25 και 35°C, ενώ η μέγιστη δραστικότητα του ενζύμου παρατηρείται συνήθως μετά από 2-4 ημέρες (Zhu et al. 1995). Στην **Εικόνα 3.2** παρουσιάζεται σχηματικά οι μέθοδοι απομόνωσης της mTGase.



Εικόνα 3. 2 Διάγραμμα απομόνωσης τρανσγλουταμινάσης μικροβιακής προέλευσης (Kieliszek & Misiewicz 2014)

3.2.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΔΟΜΗ ΤΗΣ mTGase

Η TGase αποτελεί μια μονομερής, απλή πρωτεΐνη με μοριακό βάρος, όπως αυτό προσδιορίστηκε τόσο μέσω ηλεκτροφόρησης σε πηκτή πολυακρυλαμίδιου (SDS-PAGE⁶) όσο και με χρωματογραφία διείσδυσης πηκτή, είναι περίπου 38 kDa, και το ισοηλεκτρικό σημείο της έχει υπολογιστεί στην τιμή 8,9. Όσον αφορά στην δευτεροταγή δομή του ενζύμου, όπως αυτή προσδιορίστηκε κατά Edman⁷, αποτελείται από 331 αμινοξέα (Jaros & Rohm 2011).



Εικόνα 3. 3 Κρυσταλλική δομή της μικροβιακής TGase, το σημείο C64 αντιπροσωπεύει την κυστεΐνη στο ενεργό κέντρο

Η κρυσταλλική δομή της mTGase έχει προσδιοριστεί σε ανάλυση 2,4 Å. Αποτελεί μια ενιαία, συμπαγή μονάδα (domain) με συνολικές διαστάσεις 59 x 65 x 41 Å, και αναδιπλώνεται σαν πέταλο με μια βαθιά σχισμή στην άκρη του μορίου (**Εικόνα 3.3**). Το καταλυτικό κατάλοιπο, Cys⁶⁴, βρίσκεται στο κάτω μέρος της σχισμής. Η μικροβιακή TGase παρουσιάζει α+β πρωτεϊνική δομή, με 11 α-έλικες και 8 β-πτυχωτά φύλλα, με ένα από αυτά να περιβάλλεται από α-έλικες οι οποίες είναι συγκροτημένες σε τρεις περιοχές. Το κεντρικό β-πτυχωτό φύλλο δημιουργεί μία δομή από επτά αντιπαράλληλους κλώνους, παρόλο που στραμμένο μεταξύ των β₅ και β₆ επιφανειών και υπάρχει μόνο ένας δεσμός υδρογόνου μεταξύ των κύριων αλυσίδων τους (Trp²⁵⁸ και Thr²⁷³). Το πρώτο

⁶ SDS-PAGE: Sodium Dodecyl Sulfate-Polycrylamide gel electrophoresis

⁷ Η αποικοδόμηση κατά Edman προσδιορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων σε ένα πεπτίδιο, κατά την οποία ένα αμινο-άκρο επισημαίνεται και αποκόπτεται από ένα πεπτίδιο χωρίς να καταστρέφονται οι πεπτιδικοί δεσμοί μεταξύ των υπόλοιπων αμινοξέων.

σύμπλεγμα των α -ελίκων βρίσκεται στην αριστερή πλευρά της μπροστινής όψης του μορίου και αποτελείται από τις α_1 , α_2 και α_3 έλικες, με το κατάλοιπο της Cys⁶⁴ να βρίσκεται στο βρόχο μεταξύ των α_2 και α_3 ελίκων. Το δεύτερο σύμπλεγμα, που περιλαμβάνει τις α_4 , α_5 και α_6 έλικες, και το τρίτο σύμπλεγμα, που περιλαμβάνει τις α_7 , α_8 , α_9 και α_{10} έλικες, βρίσκονται στην δεξιά και την κάτω προβολή του μορίου αντίστοιχα (Yokoyama et al. 2004).

3.2.4 ENZYMIKES ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ mTGase

Η βέλτιστη τιμή pH για τη δράση της mTGase κυμαίνεται από 5 έως 8. Παρόλα αυτά, ακόμη και σε τιμές pH 4 ή 9, το ένζυμο εμφανίζει κάποια δράση. Η βέλτιστη θερμοκρασία για τη δράση του ενζύμου είναι περίπου 55°C. Στη συγκεκριμένη θερμοκρασία, το ένζυμο διατηρεί τη δράση του για 10 min, ενώ αν το ένζυμο υποστεί θέρμανση άνω των 70°C χάνει τη δραστηριότητά του σε μόλις λίγα λεπτά. Το ένζυμο εμφανίζει δράση και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, της τάξης των 10°C, ενώ διατηρεί και κάποια από τη δραστηριότητά του σε θερμοκρασίες κοντά σε αυτή της κατάψυξης (Yokoyama et al. 2004). Παράλληλα, σε αντίθεση με την TGase ζωικής προέλευσης, η mTGase είναι αρκετά ανθεκτική σε συνθήκες υπερυψηλής πίεσης, καθώς το ενεργό της κέντρο παραμένει ανέπαφο (Jaros et al. 2006).

Σε σύγκριση με την ζωική TGase, η mTGase παρουσιάζει μικρότερη εκλεκτικότητα υποστρώματος κάτι που της προσφέρει το πλεονέκτημα να δρα στις περισσότερες πρωτεΐνες των τροφίμων, όπως οι γλοβουλίνες των οσπρίων, η γλουτένη του σιταριού, η αλβουμίνη του αυγού, η μυσίνη, οι καζεΐνες του γάλακτος, η α -γαλακτοαλβουμίνη, η β -γαλακτογλοβουλίνη και άλλες αλβουμίνες. Επιπλέον, και σε αντίθεση με την TGase ζωικής προέλευσης, η mTGase μπορεί να δράσει ανεξάρτητα από την παρουσία ιόντων ασβεστίου, ιδιότητα πολύ χρήσιμη στη ρύθμιση των λειτουργικών ιδιοτήτων των πρωτεϊνών των τροφίμων, επειδή πολλές από αυτές, συμπεριλαμβανομένων των καζεϊνών του γάλακτος, εμφανίζουν ευαισθησία και καθιζάνουν παρουσία κατιόντων ασβεστίου. Η παρουσία του κατάλοιπου κυστεΐνης είναι πολύ σημαντική για την καταλυτική δράση της mTGase καθώς πιθανά αποτελεί μέρος του ενεργού κέντρου του ενζύμου. Βαρέα μέταλλα όπως Cu^{2+} , Zn^{2+} και Pb^{2+} φαίνεται να αναστέλλουν την καταλυτική δράση του ενζύμου καθώς αντιδρούν με τα ελεύθερο θείο στο κατάλοιπο κυστεΐνης (Yokoyama et al. 2004).

3.2.5 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ mTGase

Η χρήση της mTGase εμφανίζει πολλές θετικές επιδράσεις, οι οποίες συνοψίζονται στα παρακάτω:

- Η TGase χρησιμοποιείται για να τροποποιήσει τις πρωτεΐνες με σκοπό να βελτιώσει τη διατροφική αξία του τροφίμου (Huang et al. 1995).

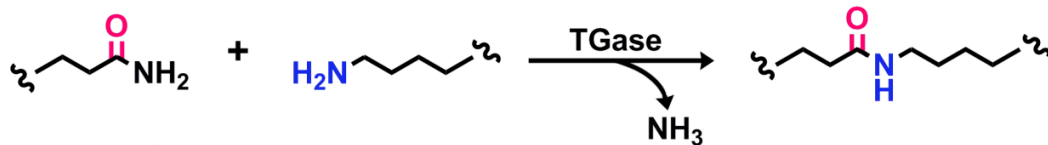
- Η mTGase έχει την ικανότητα να ενσωματώνει αμινοξέα ή πεπτίδια σε πρωτεΐνες με ομοιοπολικούς δεσμούς. Το αποτέλεσμα αυτών των δεσμών είναι οι δια- και ενδομοριακές διασυνδέσεις των πρωτεϊνών, οι οποίες αυξάνουν και τη θερμική σταθερότητα των πρωτεϊνών (Zhu et al. 1995).
- Η TGase μπορεί να μειώσει την εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων σε σύγκριση με την απλή προσθήκη πρωτεϊνών σε ένα τρόφιμο. Όπως είναι γνωστό, η εισαγωγή νέων, πρόσθετων πρωτεϊνών σε ένα τρόφιμο δύναται να εμπεριέχει κινδύνους εμφάνισης αλλεργικών αντιδράσεων στις συγκεκριμένες πρωτεΐνες. Η TGase μειώνει αυτούς του κινδύνους, αφού αποτελεί το ιδανικό υπόστρωμα για τη δέσμευση των νέων πρωτεϊνών (Zhu et al. 1995).
- Η τροποποίηση των πρωτεϊνών από την TGase μπορεί να συμβάλει στην ενθυλάκωση των λιπιδίων δημιουργώντας μεμβράνες (film) ανθεκτικές στο νερό και τη θερμότητα.
- Η χρήση της TGase μπορεί να βελτιώσει τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών και κατά συνέπεια την υφή και την ελαστικότητα του τροφίμου (Özrenk 2006).
- Η διασύνδεση με TGase αυξάνει το ιξώδες των δειγμάτων καθώς και την ικανότητα συγκράτησης νερού (Shleikin et al. 2011)
- Η TGase μπορεί να εξαλείψει την ανάγκη της θερμικής επεξεργασίας των τροφίμων για τη δημιουργία γελών (gels) (Ozrenk 2006).
- Με τη χρήση της TGase μπορούν να ζελατινοποιηθούν πρωτεΐνες που δεν μπορούν με τη χρήση θερμότητας.
- Αυξάνεται η θερμική σταθερότητα των παραγόμενων γελών.
- Η σκληρότητα των γελών αυξάνεται όταν συνδυαστεί η χρήση θερμότητας και TGase (Motoki & Seguro 1998).
- Τέλος, η TGase μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με υπερυψηλή πίεση, διότι μπορεί να διασυνδέσει τις πρωτεΐνες κάτω από αρκετά υψηλές πιέσεις (Lauber et al. 2003).

3.3 ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ mTGase ΣΤΗ ΓΑΛΑΚΤΟΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ

Οι πρωτεΐνες αποτελούν σημαντικά δομικά συστατικά των προϊόντων τροφίμων και παίζουν ξεχωριστό ρόλο στη διαμόρφωση της υφής τους. Η αξιοποίηση επομένως της τρανσγλουταμίνωσης στη διασύνδεση των πρωτεϊνών, μέσω της δημιουργίας ε-(γ-Glu)Lys διασυνδέσεων, όπως φαίνονται στην **Εικόνα 3.4.** και κατ' επέκταση στη μεταβολή της λειτουργικότητάς τους, μπορεί να αποτελέσει σημαντικό τμήμα της διαδικασίας επεξεργασίας των γαλακτοκομικών προϊόντων.

Οι καζεΐνες, οι οποίες είναι βασικό συστατικό των πρωτεϊνών του γάλακτος, αποτελούν ένα πολύ καλό υπόστρωμα για την δράση της TGase. Αυτό οφείλεται κυρίως στην ευέλικτη και μικρού βαθμού τακτικότητας της δευτεροταγούς δομής τους και στη απουσία δισουλφιδικών δεσμών στις α_{s1}- και β-καζεΐνες που επιτρέπουν στις δραστικές ομάδες των πρωτεϊνών να βρίσκονται

εκτεθειμένες στο ένζυμο (O' Connell & Kruif 2003). Αντίθετα, οι πρωτεΐνες ορού δεν διασυνδέονται το ίδιο αποτελεσματικά λόγω της συμπαγούς σφαιρικής δομής τους (Sharma et al. 2002). Η TGase αποτελεί ένα βασικό εργαλείο για να μεταβάλλει τις ρεολογικές ιδιότητες των καζεϊνών χωρίς να καταστρέφει ειδικές λειτουργικές τους ιδιότητες. Συγκεκριμένα, όταν οι καζεΐνες βρίσκονται σε μορφή μικκυλίων, οι κ-καζεΐνες διασυνδέονται ταχύτερα με τη χρήση της TGase, λόγω της θέσης τους στην επιφάνεια των μικκυλίων (Smiddy et al. 2006). Ωστόσο η διασύνδεση των καζεϊνών πρέπει να συμβαίνει μόνο ενδο-μικυλλιακά διότι δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στο μέγεθος τους (Ercili-Curga et al. 2013). Η ικανότητα διασύνδεσης των καζεϊνών με τη χρήση της TGase εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τη θερμοκρασία, το pH και την παρουσία ιόντων ασβεστίου (Hinz et al. 2012).



Εικόνα 3. 4 Δημιουργία των ε-(γ-Glu)Lys διασυνδέσεων μεταξύ των δυο πρωτεϊνών με τη χρήση της TGase

Όταν η TGase χρησιμοποιείται σε γαλακτοκομικά προϊόντα μπορεί να ενισχύσει την αντοχή των πηγμάτων, το ιξώδες και την ικανότητα κατακράτησης του ορού. Η επίδραση της TGase έχει εξεταστεί σε διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως στο θερμικά επεξεργασμένο γάλα, στην κρέμα γάλακτος, στο τυρί, στο παγωτό κ.ά., όπου σε κάθε περίπτωση έδειξε να βελτιώνει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους. Ωστόσο ένα μεγάλο κομμάτι της έρευνας έχει εστιάσει στην επίδραση της TGase στο γιαούρτι, στο οποίο θα γίνει αναλυτική αναφορά στη συνέχεια.

3.3.1 ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ mTGase ΣΤΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Η χρήση της TGase στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το γιαούρτι, έχει ως αποτέλεσμα την τροποποίηση της διαλυτότητας και της ικανότητας ενυδάτωσης των πρωτεϊνών, την μεταβολή της σταθερότητας, του ιξώδους, της ικανότητας συγκράτησης νερού, της ικανότητας ζύμωσης, των γαλακτωματοποιητικών, ρεολογικών και μηχανικών ιδιοτήτων, και της μικροδομής του πηγματος, τόσο κατόπιν της παραγωγής του όσο και κατά τη διάρκεια αποθήκευσής του (Jaros et al. 2006). Επιπρόσθετα, η επεξεργασία του γάλακτος με την τρανσγλουταμινάση μπορεί να επηρεάσει την θρεπτική αξία και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά προϊόντων με χαμηλή λιποπεριεκτικότητα ή προϊόντων στα οποία δεν έχει γίνει εμπλουτισμός με στερεά (εκτός λιπαρών υλών), και να μειώσει τη διαθεσιμότητα αμινοξέων, όπως π.χ. της λυσίνης, και των λιπιδίων ή λιποδιαλυτών ουσιών, τα οποία ευθύνονται για χημικές αντιδράσεις υποβάθμισης της ποιότητας των προϊόντων αυτών (Özrenk 2006).

Ο τρόπος παραγωγής γιαουρτιού με χρήση της TGase μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους, είτε πριν από την ζύμωση είτε ταυτόχρονα με αυτήν. Στην πρώτη περίπτωση, η TGase

απενεργοποιείται με κάποιο ενδιάμεσο στάδιο, συνήθως με θερμική επεξεργασία. Το απενεργοποιημένο ένζυμο αποτρέπει την περαιτέρω διασύνδεση των πρωτεϊνών κατά την διάρκεια της ζύμωσης του προϊόντος. Οι Jaros et al. (2006) σχεδίασαν ένα πείραμα κατά το οποίο μελέτησαν την επίδραση της TGase στο τελικό όξινο πήγμα από γάλα UHT, στο οποίο είχε γίνει ή όχι προσθήκη του ενζύμου, και συνεπακόλουθη ή όχι θέρμανση του γάλακτος για απενεργοποίηση του ενζύμου. Κατέληξαν πως το θερμικά επεξεργασμένο γάλα (85°C για 10 min), το οποίο αποτέλεσε και τον δείκτη του πειράματος, σχημάτισε σφικτότερο πήγμα σε σχέση με αυτό που περιέχει την ενεργοποιημένη ακόμα TGase. Αντίθετα, στο πήγμα που είχε απενεργοποιηθεί η TGase, η σφικτότητα ήταν σαφώς μεγαλύτερη σε σχέση με το δείγμα αναφοράς. Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός, ότι στο πήγμα με την ενεργοποιημένη TGase, έλαβαν χώρα περαιτέρω διασυνδέσεις πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Άλλες έρευνες, είχαν ως αντικείμενο την επίδραση της συγκέντρωσης της TGase ή/και του χρόνου επεξεργασίας στην διασύνδεση των πρωτεϊνών και τα παραγόμενα όξινα πηγμάτα (Bönisch et al. 2007, Jaros et al. 2010, Jaros et al. 2006). Οι Özer et al. (2007) μελέτησαν την επίδραση της TGase σε θερμικά επεξεργασμένο αγελαδινό γάλα, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 g/ L γάλακτος, επώαση στους 40°C για 120 min και απενεργοποίηση του ενζύμου στους 90°C για 5 min) για την παραγωγή γιαουρτιού τύπου σετ. Με την αύξηση της συγκέντρωσης παρατηρήθηκε μείωση του φαινομένου της συναίρεσης, και αύξηση του φαινομένου ιξώδους, μείωση του φαινομένου της όξυνσης κατά την αποθήκευση για 21 d. Ωστόσο, η αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου μείωσε το ρυθμό παραγωγή της ακεταλδεΐδης, κάτι που επηρέασε το άρωμα του τελικού προϊόντος.

Στην δεύτερη περίπτωση, όπου η TGase δεν απενεργοποιείται πριν την εκκίνηση της ζύμωσης και η διαδικασία διασύνδεσης των πρωτεϊνών συνεχίζεται και κατά τη διάρκεια της ζύμωσης αλλά και της αποθήκευσης, η μέγιστη δράση του ενζύμου παρατηρείται για pH 5-7, και μειώνεται αρκετά για pH μικρότερο του 5 (Lu et al. 2003). Οι Şanlı et al. (2011) κατέληξαν πως η προσθήκη του ενζύμου πριν την θερμική επεξεργασία του γάλακτος δεν βελτίωσε την υφή του γιαουρτιού τύπου σετ, ενώ η προσθήκη μετά την θερμική επεξεργασία ή ταυτόχρονα με την καλλιέργεια εκκίνησης βελτίωσε κατά πολύ τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού. Οι Yüksel & Erdem (2010) παρατήρησαν πως τα γιαούρτια τα οποία είχαν παραχθεί από ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα, χωρίς απενεργοποίηση του ενζύμου είχαν αρκετά υψηλή αρχική σφικτότητα, η οποία συνέχιζε να αυξάνεται και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.

Η τεχνολογία της ενζυμικής επεξεργασίας του γάλακτος με TGase έχει συνδυαστεί και με τεχνολογίες για τις οποίες υπάρχουν δεδομένα ότι τροποποιούν τις πρωτεΐνες του γάλακτος, όπως η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση, η οποία αναλύεται εκτενέστερα στο επόμενο Κεφάλαιο. Οι Anema et al. (2005) παρατήρησαν πως το γάλα που επεξεργάστηκε ενζυμικά με ταυτόχρονη εφαρμογή υπερυψηλής πίεσης είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή όξινων πηγμάτων (μέσω χημικής πήξης με gluco- δ -lactone, GDL) με αρκετά βελτιωμένα ρεολογικά χαρακτηριστικά σε σχέση με τη μεμονωμένη εφαρμογή της ενζυμικής επεξεργασίας (3 Units/ g πρωτεΐνης, επώαση στους 40°C για χρόνους επεξεργασίας 0, 60 και 120 min, και απενεργοποίηση του στους 80°C για 2 min) ή της υπερυψηλής πίεσης (400 MPa, 40°C, 0-120 min). Οι Tsendou et al. (2013) παρατήρησαν μεγάλη βελτίωση στη σφικτότητα των γιαουρτιών τύπου σετ όταν το αγελαδινό γάλα, διαφορετικού πρωτεϊνικού περιεχομένου (3,0, 3,45 και 3,70%), είχε επεξεργαστεί με υπερυψηλή πίεση (600 MPa,

55°C, 10 min) και συνεπακόλουθη επεξεργασία με TGase (2,2 Units/ g πρωτεΐνης, επώαση στους 43°C για 180 min και απενεργοποίηση στους 80°C για 1 min). Η συνδυασμένη επεξεργασία έδειξε να μειώνει κατά πολύ το χρόνο επώασης της καλλιέργειας εκκίνησης, έως και 30-40 min, σε σχέση με τις άλλες επεξεργασίες. Επιπρόσθετα, η συνδυασμένη επεξεργασία, βελτίωσε το φαινόμενο της συναίρεσης, και προκάλεσε πολύ μεγάλη αύξηση στην τελική σφικτότητα του πήγματος.

Πέρα από το αγελαδινό γάλα, έχουν πραγματοποιηθεί και μελέτες για την εφαρμογή της ενζυμικής επεξεργασίας σε γάλατα διαφορετικής προέλευσης, όπως το γίδινο γάλα, του οποίου τα προϊόντα γιαουρτιού χαρακτηρίζονται από χαμηλό φαινόμενο ιξώδες και σφικτότητα σε σχέση με το γιαούρτι από γάλα αγελάδας. Οι Domagała et al. (2013) μελέτησαν την επίδραση της TGase σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (1, 2 και 3 Units/g πρωτεΐνης, επώαση στους 5°C για 16 h και απενεργοποίηση στους 80°C για 1 min) σε γιαούρτι από γίδινο γάλα. Στο τελικό όξινο πήγμα παρατηρήθηκε πως με την αύξηση της συγκέντρωσης της TGase αυξήθηκε το φαινόμενο ιξώδες, η σφικτότητα και η προσκολλησιμότητα. Το φαινόμενο αποβολής ορού ήταν μειωμένο, ενώ το στο pH παρατηρήθηκε ελάχιστη αύξηση με την αύξηση της συγκέντρωσης. Όσον αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του πήγματος, παρατηρήθηκε μικρή διαφοροποίηση στο χρώμα, ενώ η αποδοχή της γεύσης μειώθηκε ελάχιστα με την αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου. Ωστόσο, μεγαλύτερος βαθμός αρέσκειας εκδηλώθηκε για τα πήγματα, με συγκέντρωση TGase 2 και 3 Units/g πρωτεΐνης.

Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι, η μέθοδος της ενζυμικής τροποποίησης των πρωτεϊνών μέσω της TGase, αποτελεί σημαντικό πεδίο έρευνας και επηρεάζεται από ένα πλήθος παραγόντων όπως το στάδιο εφαρμογής της, οι χρησιμοποιούμενες ενζυμικές συγκεντρώσεις, το υπόστρωμα του γάλακτος που θα χρησιμοποιηθεί και οι συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου στις οποίες θα πραγματοποιηθεί. Η επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας του γάλακτος με TGase στα φυσικοχημικά, ρεολογικά και δομικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού τύπου σετ, έχει μελετηθεί αρκετά για την περίπτωση του αγελαδινού γάλακτος, και σε μικρότερο βαθμό για το γίδινο γάλα. Ωστόσο δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές για την ενζυμική επεξεργασία του πρόβειου γάλακτος. Παράλληλα δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές για την επίδραση της επεξεργασίας με TGase στη δράση και την ενεργοποίηση των βιο-λειτουργικών πεπτιδίων που βρίσκονται στο γιαούρτι. Τέλος, μικρής κλίμακας έρευνα έχει πραγματοποιηθεί και για την δυνατότητα της συνδυαστικής εφαρμογής της ενζυμικής επεξεργασίας με άλλες τεχνολογίες που επιδρούν στα δομικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνικών πλεγμάτων, όπως η εφαρμογή της τεχνολογίας της υπερυψηλής πίεσης.

3.4 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ TGase ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Η παραγωγή της mTGase για εμπορικούς σκοπούς πραγματοποιήθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1990, πιστοποιήθηκε στον Παγκόσμιο Οργανισμό Διπλωμάτων Ευρεσιτεχνίας (Αρ. US4278765) και εντάχθηκε στην παγκόσμια αγορά υπό την επωνυμία «ACTIVA» από την Ajinomoto Co.

Incorporation (Τόκυο, Ιαπωνία). Κατόπιν αιτημάτων της εν λόγω εταιρείας για τη νόμιμη χρήση και διάθεση των διαφορετικών παρασκευασμάτων που παρήγαγε, το 1998 ξεκίνησε η διαδικασία νομιμοποίησης χρήσης της mTGase στα τρόφιμα:

- Αρχικά, τα εμπορικά παρασκευάσματα της mTGase εντάχθηκαν από τον FDA στα «Γενικώς αναγνωρισμένα ως ασφαλή» (Generally Recognized As Safe, GRAS) συστατικά, με τη γνωστοποίηση GN000095 και την προϋπόθεση ότι στην ετικέτα του προϊόντος θα πρέπει να αναφέρεται ο όρος «ένζυμο» ώστε να υποδηλώνεται η παρουσία του ενζυμικού παρασκευάσματος στο τρόφιμο.
- Το Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών (U.S. Department of Agriculture – Food Safety and Inspection Service, USDA-FSIS) όρισε ότι σε προϊόντα κρέατος και πουλερικών, το ενζυμικό παρασκεύασμα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε μέγιστη συγκέντρωση 65 ppm, με εξαίρεση το στήθος κοτόπουλου για το οποίο τα όρια τέθηκαν στα 100 ppm.
- Το Υπουργείο Εμπορίου των Ηνωμένων Πολιτειών, όρισε ότι η TGase επιτρέπεται να χρησιμοποιείται σε επεξεργασμένα θαλασσινά, αλλά θα πρέπει να συμμορφώνεται με τους κανονισμούς που ορίζει ο FDA.
- Ο Οργανισμός Υγείας του Καναδά εξέδωσε το 2004 απόφαση με την οποία επιτράπηκε η χρήση των ενζυμικών παρασκευασμάτων TGase της ίδιας εταιρείας στα έτοιμα προϊόντα ψαριού, σε προϊόντα απομίμησης κρέατος, σε τυριά και κρέμες τυριού, στο γιαούρτι και στα παγωμένα γαλακτοκομικά επιδόρπια.
- Στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης αναμένεται ο αναθεωρημένος κανονισμός 1332/2008/EC, ο οποίος θα περιλαμβάνει λίστα με τα ένζυμα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένης και της TGase.
- Όταν το ένζυμο είναι παρόν στο τρόφιμο τότε θα πρέπει να αναγράφεται στην ετικέτα σύμφωνα με την Οδηγία 2000/13 της Ε.Ε.. Ωστόσο, αν το ένζυμο έχει απενεργοποιηθεί με χρήση κάποιας θερμικής επεξεργασίας (άνω των 70°C) κατά την παραγωγή, τότε από νομοθετικής σκοπιάς δεν είναι απαραίτητη η επισήμανση του ενζυμικού παρασκευάσματος στην ετικέτα του προϊόντος, γιατί τότε θεωρείται μέθοδος επεξεργασίας (processing aid). Ως μέθοδο επεξεργασίας, κι όχι ως συστατικό τροφίμου, έχει νομιμοποιηθεί με εσωτερικούς κανονισμούς σε κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, όπως η Γαλλία και η Γερμανία.

4. Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σήμερα, καθώς ο τομέας των λειτουργικών τροφίμων αναπτύσσεται όλο και περισσότερο, τα ελάχιστα επεξεργασμένα τρόφιμα φέρουν μεγαλύτερης αποδοχής από το καταναλωτικό κοινό. Η εμφάνιση των μη-θερμικών τεχνολογιών επεξεργασίας τροφίμων κερδίζουν όλο και περισσότερο έδαφος λόγω της μεγαλύτερης προσοχής που δίνεται τόσο στην ασφάλεια των τροφίμων όσο και στην υγεία των καταναλωτών. Μια πολλά υποσχόμενη τεχνολογία που χρησιμεύει ως εναλλακτική για την συντήρηση των τροφίμων είναι η εφαρμογή της υπερυψηλής πίεσης (ΥΠ). Αρχικά η μέθοδος αυτή προτάθηκε από τον Roger το 1895 για την αποτελεσματική αντιμετώπιση των βακτηρίων στα τρόφιμα και στη συνέχεια μελετήθηκε από τον Hite το 1899 η εφαρμογή της σε τρόφιμα όπως το γάλα, το κρέας, τα φρούτα και τα λαχανικά (Naik et al.2013).

Η τεχνολογία της ΥΠ θεωρείται μια μη-θερμική μέθοδος που απενεργοποιεί τους παθογόνους μικροοργανισμούς και τα βλαστικά κύτταρα που προκαλούν αλλοίωση στο τρόφιμο χρησιμοποιώντας πίεση αντί για θέρμανση για να επιτευχθεί η παστερίωση (Balasubramaniam et al. 2011). Η υπερυψηλή πίεση αποκαλείται και Υψηλή Υδροστατική Πίεση (ΥΥΠ), είτε εξαιρετικά υψηλή πίεση, είτε ισοστατική γιατί χρησιμοποιεί έντονη πίεση (100-1000 MPa) (Trujillo et al. 2002), ενώ αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο για την επεξεργασία των τροφίμων σε ψυχρές ή ήπιες θερμοκρασίες (<45°C). Αυτό επιτρέπει στα τρόφιμα να διατηρούνται για μεγάλα χρονικά διαστήματα, με ελάχιστες επιπτώσεις στη γεύση, την υφή, την εμφάνιση ή τη διατροφική αξία τους. Η επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να εφαρμοστεί τόσο σε υγρά όσο και σε στερεά τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Παρόλο που η εφαρμογή της πίεσης είναι θανατηφόρα για τους μικροοργανισμούς, η επεξεργασία με ΥΠ δεν επιδρά στους ομοιοπολικούς δεσμούς του τροφίμου και επομένως έχει μικρή ή ελάχιστη επίδραση στη χημεία του. Έτσι, η ΥΠ προσφέρει την διατήρηση της ποιότητας των τροφίμων ενώ παράλληλα αποφεύγεται η ανάγκη για υπερβολικές θερμοκρασίες ή η χρήση συντηρητικών (Balasubramaniam et al. 2011).

Η επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μεταβολή των λειτουργικών και των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των διαφόρων συστατικών του τροφίμου, ειδικά των πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες του κρέατος, του ψαριού, του αβγού και των γαλακτοκομικών προϊόντων μπορούν και μετουσιώνονται με την χρήση της ΥΠ και απουσία υψηλών θερμοκρασιών. Επιπρόσθετα, στα επεξεργασμένα τρόφιμα παρουσιάζεται αυξημένο ιξώδες και θολερότητα, ενώ παρατηρείται μικρή αλλαγή στη γεύση. Παράλληλα η ΥΠ έχει μικρή επίδραση σε σύγκριση με τις θερμικές επεξεργασίες σε ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, όπως οι αρωματικές ενώσεις, οι βιταμίνες και οι χρωστικές ουσίες. Συνεπώς, η ποιότητα των επεξεργασμένων με ΥΠ τροφίμων είναι παρόμοια με αυτή των φρέσκων (Balasubramaniam et al. 2011).

Η έρευνα σχετικά με την εφαρμογή της ΥΠ για τη συντήρηση του γάλακτος ξεκίνησε από τον Hite (1899) και έδειξε ότι τόσο η διάρκεια ζωής του γάλακτος όσο και άλλων προϊόντων διατροφής επεκτεινόταν με την εφαρμογή της πίεσης. Ωστόσο, η έλλειψη κατάλληλου εξοπλισμού στάθηκε εμπόδιο στην ανάπτυξη της διεργασίας. Η διεργασία της ΥΠ αναπτύχθηκε πολύ αργότερα σε βιομηχανικό επίπεδο, τις δεκαετίες του '70 και του '80, σαν αποτέλεσμα της τεχνολογικής προόδου των κεραμικών και μεταλλουργικών βιομηχανιών. Τα πρώτα προϊόντα που κυκλοφόρησαν στην αγορά ήταν το 1991 στην Ιαπωνία, ενώ τα τελευταία χρόνια η ΥΠ χρησιμοποιείται σε τρόφιμα όπως οι φρουτοχυμοί, οι μαρμελάδες, οι σάλτσες, το ρύζι, τα κέικ, τα γλυκά και το κομμένο σε φέτες ζαμπόν (Trujillo et al. 2002). Η εμπορική αξιοποίηση της επεξεργασίας τροφίμων με ΥΠ έχει επεκταθεί ακόμη περισσότερο, διότι προσφέρει μια ευκαιρία για τρόφιμα διατηρούνται περισσότερο και στην ετικέτα των οποίων αναγράφονται πιο «αγνά» συστατικά (Balasubramaniam et al. 2011).

4.2 ΑΡΧΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η υπερυψηλή πίεση δημιουργείται αυξάνοντας την ελεύθερη ενέργεια, κάτι που μπορεί να επιτευχθεί με φυσική συμπίεση κατά τη διάρκεια επεξεργασίας με πίεση σε ένα κλειστό σύστημα με παράλληλη μείωση του μηχανικού όγκου. Συνήθως η ΥΠ συνοδεύεται με ήπια αύξηση της θερμοκρασίας, η οποία ονομάζεται αδιαβατική θέρμανση και εξαρτάται από τη σύσταση του υπό επεξεργασία τροφίμου (Balasubramaniam et al., 2004; Naik et al. 2013).

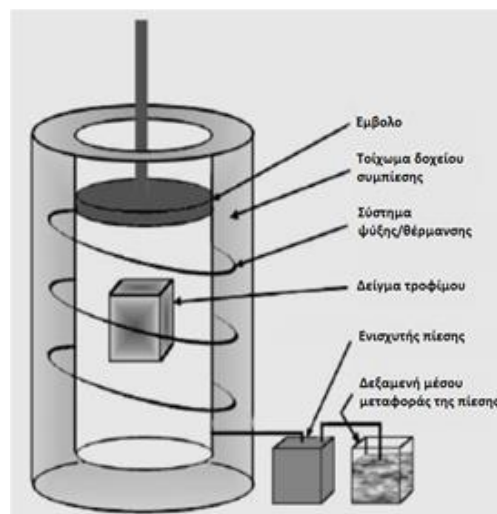
Υπάρχουν τρεις βασικές λειτουργικές αρχές που διέπουν την επεξεργασία με ΥΠ: η αρχή Le-Chatelier, η ισοστατική αρχή και η αρχή της μικροσκοπικής διάταξης. Σύμφωνα με τη πρώτη αρχή, κατά την επίδραση της πίεσης τα βιομόρια υπακούουν την αρχή Le-Chatelier. Δηλαδή, όταν εφαρμόζεται τάση σε σύστημα που βρίσκεται σε ισορροπία, τότε το σύστημα αντιδρά με τέτοιο τρόπο ώστε να αντιμετωπίσει την εφαρμοσμένη τάση. Αντιδράσεις που οδηγούν σε μείωση όγκου θα προωθηθούν με τη βοήθεια της υπερυψηλής πίεσης, όπως αυτές που οδηγούν σε απενεργοποίηση μικροοργανισμών και ενζύμων. Σύμφωνα με τη δεύτερη αρχή, δηλαδή την ισοστατική, όταν τα τρόφιμα συμπιέζονται με ομοιόμορφο τρόπο μπορούν να επανέλθουν στην αρχική τους κατάσταση όταν απελευθερώνεται η πίεση (Olsson 1995). Τα προϊόντα συμπιέζονται

ανεξάρτητα από το μέγεθος και τη γεωμετρία τους, διότι η μετάδοση της πίεσης στον πυρήνα τους είναι ανεξάρτητη από το χρόνο και τη μάζα (Cheftel 1995, Farkas et al. 2000). Για το λόγο αυτό η υπερυψηλή πίεση ονομάζεται και ισοστατική. Τέλος, σύμφωνα με την αρχή της μικροσκοπικής διάταξης, σε σταθερή θερμοκρασία, μία αύξηση της πίεσης αυξάνει το βαθμό διάταξης των βιομορίων σε μια ουσία. Επομένως, η θερμοκρασία και η πίεση ασκούν ανταγωνιστικές δυνάμεις στη μοριακή δομή και στις χημικές αντιδράσεις (Balny et al. 1993).

4.3 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

Τα βασικά εξαρτήματα που συναντά κανείς σε μια διάταξη υπερυψηλής πίεσης είναι το δοχείο συμπίεσης, το σύστημα δημιουργίας και ενίσχυσης της πίεσης και διάφορα υποστηρικτικά εξαρτήματα όπως το σύστημα ψύξης/θέρμανσης, κ.ά. Τα βασικά στοιχεία της διάταξης φαίνονται στην **ΕΙΚΟΝΑ 4.1** (Naik et al. 2013).

Κατά τη διάρκεια της διεργασίας, όταν το δοχείο συμπίεσης πληρωθεί και σφραγιστεί, γεμίζεται με ένα μέσο μεταφοράς της πίεσης. Ο αέρας αφαιρείται από το δοχείο με αυτόματη βαλβίδα εξαέρωσης με τη βοήθεια μιας χαμηλής πίεσης γρήγορης-πλήρωσης-και-αποστράγγισης αντλίας, και στη συνέχεια δημιουργείται υπερυψηλή πίεση με άμεση ή με έμμεση συμπίεση ή με θέρμανση του μέσου μεταφοράς της πίεσης (Mertens, 1995) .



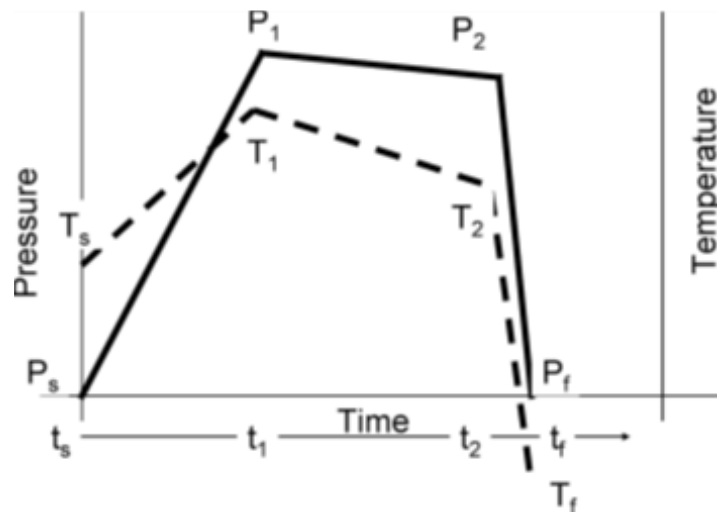
Εικόνα 4. 1 Στοιχεία διάταξης ΥΠ (Naik et al. 2013)

Η επεξεργασία από ΥΠ πραγματοποιείται με τη βοήθεια κάποιου υγρού μέσου που παρουσιάζει χαμηλή συμπιεστότητα, όπως το νερό ή τη γλυκερόλη. Με βάση τις αρχές που

αναφέρθηκαν παραπάνω το φαινόμενο μεταφοράς φάσης και οι χημικές αλλαγές συνοδεύονται από μείωση όγκου, που ευνοείται από την πίεση και αντίστροφα. Η πίεση μεταφέρεται ακαριαία και ομοιόμορφα σε όλο το τρόφιμο ανεξάρτητα από το μέγεθος και τη γεωμετρία του (Naik et al. 2013)

Η ΥΠ χαρακτηρίζεται από τρεις παραμέτρους: τη θερμοκρασία (T), την πίεση (p) και το χρόνο έκθεσης (t), σε αντίθεση με τις θερμικές μεθόδους συντήρησης που βασίζονται μόνο σε δύο παραμέτρους (T , t). Το γεγονός αυτό προσδίδει στην ΥΠ μια ευρεία μεταβλητότητα για το σχεδιασμό της διεργασίας και τη βελτίωση της διάρκειας ζωής (Naik et al. 2013). Η μεταβολή των τριών παραμέτρων που χαρακτηρίζουν την ΥΠ μπορούν να απεικονιστούν όπως φαίνεται στην **Εικόνα 4.2**. Για να κατανοήσει κανείς πως μεταβάλλονται αυτές οι παράμετροι πρέπει να λάβει υπόψη του τα παρακάτω βήματα της διεργασίας:

- Χρόνος ανόδου: Είναι ο χρόνος που απαιτείται για την άνοδο της πίεσης στο τρόφιμο από την ατμοσφαιρική στην επιθυμητή. Ο χρόνος αυτός εξαρτάται από το ρυθμό συμπίεσης τόσο του τροφίμου όσο και του μέσου μεταφοράς πίεσης και είναι ανάλογος της δύναμης της αντλίας καθώς και το πόσο υψηλή είναι η τιμή της επιθυμητής πίεσης.
- Χρόνος επεξεργασίας: Ο χρόνος παραμονής της σταθερής πίεσης μεταξύ του τέλους της συμπίεσης και την αρχή της αποσυμπίεσης. Για να είναι επιτυχής η βιομηχανική εφαρμογή της ΥΠ συνιστάται μικρός χρόνος επεξεργασίας, γιατί είναι πιο αποδοτική οικονομικά. Προτιμάται ο χρόνος επεξεργασίας να είναι μικρότερος από 5 min, διότι έτσι μεγιστοποιείται η παραγωγικότητα της διεργασίας.
- Χρόνος αποσυμπίεσης: Είναι ο χρόνος που απαιτείται για να επανέλθει η πίεση του τροφίμου στην ατμοσφαιρική (Balasubramaniam et al. 2004).



Εικόνα 4. 2 Παράδειγμα μεταβολής της πίεσης και της θερμοκρασίας σε συνάρτηση με το χρόνο κατά την εφαρμογή της ΥΠ (Rastogi et al. 2007)

Αρχικά, για να είναι επιτυχής η διεργασία, πολύ μεγάλο ρόλο παίζουν η αρχική θερμοκρασία του προϊόντος, του μέσου μεταφοράς πίεσης και του δοχείου της διεργασίας, διότι αποτελούν σημαντικές παραμέτρους για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών. Όπως και στις θερμικές διεργασίες, είναι απαραίτητο να δοθεί χρόνος για να επιτευχθεί ισορροπία στην θερμοκρασία μεταξύ όλων των παραμέτρων με απόκλιση $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ από την θερμοκρασία-στόχο. Για ετερογενή τρόφιμα, ίσως χρειάζεται περισσότερη προσπάθεια και χρόνος για να επιτευχθεί η απαραίτητη θερμοκρασία ισορροπίας (Balasubramaniam et al. 2004).

Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΥΠ, η θερμοκρασία του τροφίμου αυξάνεται λόγω της φυσικής συμπίεσης. Όπως φαίνεται και στο παραπάνω σχήμα, η αύξηση της πίεσης κατά τη διάρκεια του χρόνου ανόδου από την αρχική πίεση P_s σε P_1 αυξάνει και τη θερμοκρασία. Το μέγεθος της αύξησης της θερμοκρασίας εξαρτάται εν μέρει από την αρχική θερμοκρασία, την συμπιεστότητα του υλικού, την ειδική θερμότητα και την επιθυμητή πίεση της διεργασίας. Η μέγιστη θερμοκρασία του προϊόντος κατά την εφαρμογή της πίεσης είναι ανεξάρτητη από τον ρυθμό συμπίεσης μόνο όταν η μεταφορά θερμότητας προς το περιβάλλον είναι αμελητέα. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας των ουσιών που έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό είναι ανάλογος με την μεταβολή της πίεσης, ενώ οι λιπαρές ουσίες παρουσιάζουν μια καθυστέρηση της τάξης των 30-60 s πριν φτάσουν την μέγιστη θερμοκρασία (T_1), που οφείλεται στη διαφορετική μοριακή δομή τους (Rasanayagam et al. 2003). Κατά την διάρκεια διατήρησης της πίεσης (P_1 σε P_2), η θερμοκρασία του προϊόντος μειώνεται από T_1 σε T_2 λόγω της απώλειας θερμότητας από το δοχείο πίεσης. Αμέσως μετά την αποσυμπίεση, η θερμοκρασία του προϊόντος φτάνει σε θερμοκρασία ελαφρώς χαμηλότερη από την αρχική. Με αυτό τον τρόπο η διεργασία της ΥΠ προσφέρει ένα μοναδικό τρόπο για να αυξάνεται η θερμοκρασία του προϊόντος μόνο κατά τη διάρκεια της διεργασίας (Rastogi et al. 2007).

Επιπρόσθετα, κατά τη διάρκεια της συμπίεσης (t_1 σε t_2), παρατηρείται μείωση του όγκου των τροφίμων σε συνάρτηση με την πίεση. Όταν στο καθαρό νερό και στα περισσότερα από τα τρόφιμα με μεγάλη περιεκτικότητα σε υγρασία, εφαρμοστεί πίεση της τάξης των 600 MPa σε θερμοκρασία περιβάλλοντος παρατηρείται μείωση στον όγκο κατά 15%. Το τρόφιμο παραμένει έτσι κατά την εφαρμογή της πίεσης (t_1 σε t_2) μέχρι την αρχή της αποσυμπίεσης (t_2 σε t_f). Κατά την αποσυμπίεση, το τρόφιμο συνήθως επανέρχεται στον αρχικό του όγκο (Farkas et al. 2000).

Όλα τα συμπιεστά συστατικά αλλάζουν θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της φυσικής συμπίεσης και αυτό είναι ένα αναπόφευκτο θερμοδυναμικό αποτέλεσμα (Ting et al. 2002). Το νερό έχει τη χαμηλότερη τιμή θερμότητας συμπίεσης, ενώ τα λιπαρά και τα έλαια έχουν την υψηλότερη. Για παράδειγμα, σε πιέσεις που απαντώνται κατά την διεργασία της ΥΠ (400-1000 MPa), υπό αδιαβατικές συνθήκες και σε θερμοκρασία δωματίου, αυξάνεται η θερμοκρασία του νερού 3°C για κάθε 100 MPa. Επιπρόσθετα, η θερμότητα συμπίεσης του νερού αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Από τη στιγμή που το νερό είναι το βασικό συστατικό στα περισσότερα τρόφιμα, οι μεταβολές της αδιαβατικής θερμοκρασίας που παρουσιάζεται από τα υπόλοιπα τρόφιμα είναι πολύ παρόμοια με αυτή του νερού, εκτός από τα έλαια και το αλκοόλ. Τα λίπη και τα έλαια παρουσιάζουν την μεγαλύτερη θερμότητα συμπίεσης (6,0-8,7 $^{\circ}\text{C}$ ανά 100 MPa) (Rastogi et al. 2007, Rasanayagam et al. 2003).

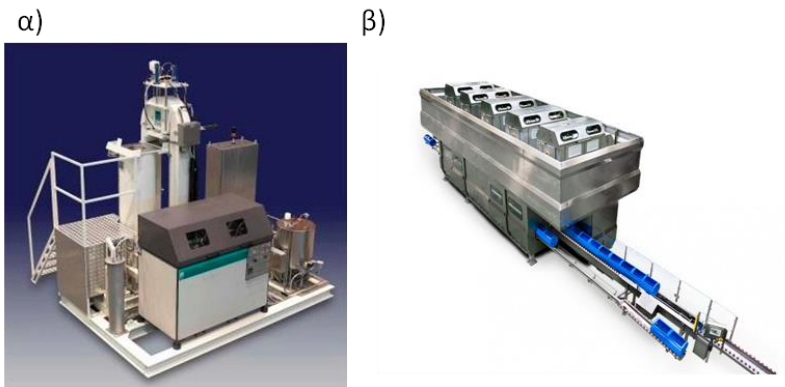
Με όμοιο τρόπο μεταβάλλεται και η θερμοκρασία του μέσου μεταφοράς της πίεσης μετά την συμπίεση, καθώς αυτή εξαρτάται από τις θερμικές ιδιότητες του μέσου και επηρεάζει την θερμοκρασία του τροφίμου. Αυτή η διαδικασία μπορεί να δημιουργήσει επιπρόσθετες θερμοκρασιακές διακυμάνσεις στο προϊόν (Denys et al. 2000). Οι διαφορές αυτές μπορεί να οφείλονται στις διαφορετικές θερμικές ιδιότητες των εξεταζόμενων προϊόντων.

4.4 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Οι βασικές παράμετροι για την επιτυχία της διεργασίας και το σωστό σχεδιασμό βιομηχανικών μονάδων ΥΠ είναι η ασφάλεια, η αξιοπιστία και η παραγωγικότητα, η ευκολία εγκατάστασης, λειτουργίας, συντήρησης και καθαρισμού (Jung et al. 2011). Τα μηχανήματα που εγκαθίστανται στη βιομηχανία τροφίμων θα πρέπει να είναι συμπαγή και κατά το σχεδιασμό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι αυτά θα πραγματοποιούν πολλούς κύκλους συμπίεσης ανά ώρα σε πιέσεις έως και 600 MPa. Αυτό αποτελεί πρόκληση για τους κατασκευαστές του εξοπλισμού, αφού ο εξοπλισμός θα υποβάλλεται σε έντονες μηχανικές καταπονήσεις εξαιτίας των υψηλών πιέσεων και των συνεχών κύκλων συμπίεσης-εκτόνωσης. Παράλληλα, ο εξοπλισμός πρέπει να είναι εύκολος στη σφράγιση και στον καθαρισμό του. Επομένως τα υλικά κατασκευής του παίζουν έναν ακόμα πολύ σημαντικό ρόλο για την ποιότητα της διεργασίας (Ohlsson et al. 2002).

Ο σχεδιασμός του πρώτου εξοπλισμού ΥΠ για τη βιομηχανία τροφίμων βασίστηκε στις ίδιες παραμέτρους με αυτές των υπολοίπων βιομηχανιών, όπως των χημικών, των κεραμικών και των μεταλλουργικών. Ο εξοπλισμός σχεδιάστηκε με ένα κάθετο δοχείο με ένα μόνο κλείσιμο και έτσι η διαδικασία φόρτωσης/εκφόρτωσης γινόταν πραγματικά πολύ αργά (βλ. **Εικόνα 4.3α**). Η τοποθέτηση του δοχείου συμπίεσης σε οριζόντια θέση άλλαξε το σενάριο της ΥΠ στη βιομηχανία τροφίμων (βλ. **Εικόνα 4.3β**). Ο πρώτος εξοπλισμός οριζόντιας διάταξης κατασκευάστηκε από την GEC ALSTOM ACB για την ισπανική βιομηχανία κρέατος Espruña το 1998 και πλέον το 97,5% των εξοπλισμών που έχουν εγκατασταθεί τα τελευταία χρόνια είναι οριζόντιας διάταξης (Jung et al. 2011).

Η επεξεργασία με ΥΠ σε εξοπλισμούς οριζόντιας διάταξης εμφανίζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με εξοπλισμούς κάθετης διάταξης. Η διαδικασία φόρτωσης/εκφόρτωσης είναι πιο εύκολη από ότι σε άλλους σχεδιασμούς. Με ένα μηχάνημα οριζόντιας διάταξης δεν απαιτείται η χρήση γερανών και έτσι εξοικονομείται χρόνος, ενέργεια και κόστος. Η εγκατάσταση του εξοπλισμού είναι πιο εύκολη λόγω του μεγέθους (μικρό ύψος σε σχέση με τις κάθετες μονάδες) και συνεπώς ο σχεδιασμός αυτός δεν απαιτεί την κατασκευή του εξοπλισμού σε πολλά επίπεδα. Η ανιχνευσιμότητα, ένας σημαντικός παράγοντας στη βιομηχανία τροφίμων, πραγματοποιείται καλύτερα στις οριζόντιες διατάξεις, μειώνοντας τον κίνδυνο να μπερδευτούν τα ανεπεξέργαστα με τα επεξεργασμένα προϊόντα, αφού η διαδικασία φόρτωσης λαμβάνει χώρα στο ένα άκρο του εξοπλισμού, ενώ το άλλο άκρο προετοιμάζεται για την εκφόρτωση του επεξεργασμένου προϊόντος (Mújica-Paz et al. 2011).



Εικόνα 4. 3 Εξοπλισμός ΥΠ α) κάθετης και β) οριζόντιας διάταξης

Αν και τα μηχανήματα οριζόντιας διάταξης έλυσαν πολλές προκλήσεις της βιομηχανίας τροφίμων, ωστόσο νέες προκλήσεις εμφανίστηκαν τα τελευταία χρόνια. Σε αυτές συμπεριλαμβάνεται η προσθήκη επιπλέον ενισχυτών της πίεσης προκειμένου να μειωθεί ο χρόνος επίτευξης της επιθυμητής πίεσης, το οποίο θα έχει ως αποτελέσματα συντομότερους κύκλους και άρα μεγαλύτερη παραγωγικότητα (ο χρόνος επίτευξης της πίεσης έως τα 600 MPa ανερχόταν το 2000 στα 5 min, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος το 2010 είχε μειωθεί σε 2,5 min (Jung et al. 2011).

4.5 ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

Η τεχνολογία γύρω από τη συσκευασία που χρησιμοποιείται στην διεργασία της ΥΠ εξαρτάται από κάποιους παράγοντες όπως το αν η επεξεργασία του προϊόντος πραγματοποιείται μέσα στο δοχείο συμπίεσης ή συσκευάζεται μετά την επιβολή της πίεσης. Για την πρώτη περίπτωση προτιμάται η συσκευασία να είναι εύκαμπτη ή μερικώς άκαμπτη. Από την άλλη πλευρά, τα υγρά τρόφιμα, τα οποία υπόκεινται σε συνεχείς ή ημι-συνεχείς διεργασίες, απαιτούν ασηπτική συσκευασία μετά την διεργασία της ΥΠ (Naik et al. 2013). Γενικότερα, για την καλύτερη προστασία του τροφίμου από μολύνσεις από το μέσο πίεσης, αλλά και για την καλύτερη αποτελεσματικότητα της διεργασίας, προτιμάται κατά γενική ομολογία να εφαρμόζεται η ΥΠ όταν το τρόφιμο βρίσκεται στην τελική του συσκευασία (Norton & Sun 2008).

Η αποτελεσματικότητα της ΥΠ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις φυσικές και μηχανικές ιδιότητες του υλικού συσκευασίας. Το υλικό συσκευασίας πρέπει να είναι σε θέση να αντέξει τις υψηλές πιέσεις λειτουργίας, να έχει καλές ιδιότητες σφράγισης καθώς και να προστατεύει την ποιότητα του τροφίμου από την εφαρμογή της πίεσης. Για το λόγο αυτό πρέπει τουλάχιστον η μια επιφάνεια της συσκευασίας να είναι αρκετά εύκαμπτη για να μεταδίδεται η πίεση. Συνεπώς δεν

συνίσταται η χρήση συσκευασίας από άκαμπτο μέταλλο, πλαστικό δοχείο ή γυαλί (Rastogi et al. 2007). Τα πιο κοινά υλικά συσκευασίας που χρησιμοποιούνται είναι το πολυπροπυλένιο (PP), σωλήνες πολυεστέρα, σακούλες πολυαιθυλενίου (PE) και σακούλες πολυπροπυλενίου σε συνδυασμό με νάιλον (Naik et al. 2013). Η χρήση συσκευασιών από πολυστρωματικά φιλμ πολυμερών είναι επίσης κοινή και έχει μελετηθεί εκτενέστερα η αντοχή εφελκυσμού τους, η αντοχή της θερμικής σφράγισης, η διαπερατότητα του οξυγόνου, το όριο διαπερατότητας των υδρατμών καθώς και η διάχυση αρωματικών συστατικών (LeBail et al. 2006, Caner et al. 2004).

Γενικότερα, οι πλαστικές συσκευασίες βρίσκουν καλύτερη εφαρμογή στην διεργασία της ΥΠ λόγω της ελαστικότητας και της ευελιξίας που παρουσιάζουν και συνεπώς της ιδιότητάς τους να επανέρχονται στην αρχική τους κατάσταση. Για το λόγο αυτό τα υλικά συσκευασίας που επιλέγονται για τις διεργασίες της ΥΠ πρέπει να είναι σε θέση να αντέχουν, κατά την επιβολή της πίεσης, 15% αύξηση του όγκου και ακόλουθη επαναφορά στην αρχική τους κατάσταση χωρίς να χάνουν τις φυσικές τους ιδιότητες ή να καταπονείται η σφράγιση της συσκευασίας. Είναι επίσης απαραίτητη η ελάττωση του κενού χώρου στη συσκευασία, διότι έτσι αυξάνεται η απόδοση μεταφοράς της πίεσης στο τρόφιμο, ελέγχονται καλύτερα οι καταπονήσεις στην συσκευασία και μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για να επιτευχθεί η απαιτούμενη πίεση (Naik et al. 2013).

4.6 ΕΜΠΟΡΙΚΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΥΠ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Οι καταναλωτές σήμερα επιλέγουν τρόφιμα των οποίων τα βασικά χαρακτηριστικά είναι η ασφάλεια και η ποιότητα. Αυτό συνεπάγεται ότι οι βιομηχανίες τροφίμων πρέπει να είναι διατεθειμένες να επενδύσουν σε νέες τεχνολογίες οι οποίες βελτιώνουν την ασφάλεια, την διατροφική αξία καθώς και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου. Η ΥΠ αποτελεί μια επεξεργασία που μπορεί να προσφέρει όλα αυτά τα χαρακτηριστικά, ωστόσο την εφαρμογή της περιορίζουν τα ακριβά προϊόντα. Όπως και με όλες τις καινούριες τεχνολογίες, η χρήση της ΥΠ εξαρτάται από το κέρδος που μπορεί να προσφέρει σε μια βιομηχανία, και γι' αυτό το λόγο, στις περισσότερες περιπτώσεις η ΥΠ επιλέγεται να αντικαταστήσει ήδη υπάρχουσες τεχνολογίες επεξεργασίας που δεν παρέχουν το επιθυμητό τελικό αποτέλεσμα (Corkindale 2006, Norton & Sun 2008)

Στα τρόφιμα που έχουν επεξεργαστεί με ΥΠ θα πρέπει το κόστος της παραγωγικής διαδικασίας να είναι μικρότερο από την αξία που προστίθεται στο προϊόν. Η αξία αυτή μπορεί να μετρηθεί σε όρους όπως η υψηλότερη ποιότητα, υψηλότερη ασφάλεια και μεγαλύτερη διάρκεια ζωής του τελικού προϊόντος. Η αξία αυτή μπορεί επιπρόσθετα να μεταφραστεί και σε μειωμένη μεταφορά, αποθήκευση, κόστος εργασίας για την βιομηχανία, ενώ μπορεί να βελτιώσει την εξυπηρέτηση των καταναλωτών και την ασφάλειά τους. Οι βιομηχανίες τροφίμων θα πρέπει να είναι σε θέση να κάνουν μια ρεαλιστική ανάλυση κόστους-κέρδους των πιθανών οφελών μιας επένδυσης σε βιομηχανικό εξοπλισμό ΥΠ. Στην ανάλυση αυτή καθοριστικό ρόλο θα πρέπει να παίζει ο παράγοντας της ασφάλειας του τροφίμου, καθώς οι απαιτήσεις που αφορούν τις

μικροβιολογικές προδιαγραφές που πρέπει να πληροί ένα προϊόν είναι αυξημένες. Παρόλο που η αξία της ασφάλειας των τροφίμων δεν μπορεί να ποσοτικοποιηθεί, ιστορικά έχει αποδειχθεί ότι σε περίπτωση κάποιας επιμόλυνσης η φήμη του παραγωγού ή το σήμα της βιομηχανίας μπορεί να μην ανακάμψουν ποτέ. Για το λόγο αυτό είναι επιτακτική ανάγκη για τις βιομηχανίες ένα σταθερά ασφαλές προϊόν (Ting et al. 2002, Norton & Sun 2008).

Για να υπολογιστεί το ακριβές κόστος της λειτουργίας ενός εργοστασίου με ΥΠ πρέπει να ληφθούν υπόψη παράγοντες όπως η πίεση λειτουργίας, ο χρόνος ενός κύκλου επεξεργασίας, η γεωμετρία του προϊόντος, οι δεξιότητες του εργατικού δυναμικού, το ενεργειακό κόστος, κ.ά. Οι μεγαλύτεροι προμηθευτές βιομηχανικού εξοπλισμού ΥΠ είναι οι εταιρείες Anvure Technologies, NC Hyperbaric και Uhde. Ο όγκος των δοχείων πίεσης εμπορικής κλίμακας κυμαίνεται από 30 έως 600 L και διατίθενται σε οριζόντια και κάθετη διάταξη. Το αρχικό κόστος επένδυσης για ένα σύστημα ΥΠ εκτιμάται ότι κυμαίνεται από τις €370.000 έως τα €1,85 εκατομμύρια, ανάλογα με τη δυναμικότητα του εξοπλισμού και το βαθμό αυτοματοποίησής του (Balasubramaniam et al. 2011). Τα τελευταία χρόνια η επιβάρυνση της επεξεργασίας με ΥΠ στο τελικό προϊόν κυμαίνεται στα 0,045-0,22 €/kg προϊόντος, συμπεριλαμβανομένου του κόστους λειτουργίας και της απόσβεσης του κεφαλαίου, το οποίο δεν προκύπτει να είναι αρκετά υψηλότερο από το αντίστοιχο της θερμικής επεξεργασίας (Sàiz et al. 2008).

Όπως με όλα τα είδη εξοπλισμού, όσο μεγαλύτερη η χρήση του τόσο αυξάνεται και η απόδοσή του, δηλαδή με την ωρίμανση της τεχνολογίας αναμένονται λιγότερες δαπάνες για την λειτουργία του νέου εξοπλισμού επεξεργασίας. Σε πολλούς τομείς της βιομηχανίας τροφίμων χρησιμοποιείται ήδη η τεχνολογία της ΥΠ και έχει αποδειχθεί βιώσιμη, αφού οι καταναλωτές είναι διατεθειμένοι να καταβάλλουν το αντίστοιχο αντίτιμο για προϊόντα που παρουσιάζουν καλύτερη ποιότητα και μεγαλύτερη ασφάλεια (Ting et al. 2002, Corkindale 2006, Norton & Sun 2008).

4.7 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Σήμερα, στις περισσότερες χώρες, η ασφάλεια των τροφίμων ελέγχεται αυστηρά από κανονισμούς. Η μεγάλη ζήτηση για ελάχιστα επεξεργασμένα τρόφιμα, αλλά ταυτόχρονα ασφαλή για τον καταναλωτή, κάνει επιτακτική την ανάγκη για νέες τεχνολογίες. Επί του παρόντος, υπάρχουν δύο ρυθμιστικές τάσεις για την εμπορευματοποίηση τροφίμων και την νομοθεσία γύρω από αυτά που παράγονται με τη χρήση της ΥΠ, είτε εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) είτε εκτός.

Εκτός της ΕΕ, τα τρόφιμα που έχουν υποστεί επεξεργασία με ΥΠ κυκλοφορούν στην αγορά της Ιαπωνίας από το 1990, ενώ στις ΗΠΑ από το 1996. Δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες για αρνητικές επιπτώσεις της ΥΠ όσον αφορά στις τοξίνες, τα αλλεργιογόνα και τα θρεπτικά συστατικά (Naik et al. 2013). Συγκεκριμένα στις ΗΠΑ, για τα επεξεργασμένα με ΥΠ τρόφιμα εφαρμόζονται οι παραδοσιακοί κανονισμοί για την υγεία, χωρίς να υπάρχει κάποια ειδική ρύθμιση γι' αυτά (Norton

& Sun 2008). Στις αναπτυσσόμενες χώρες δεν έχουν θεσπιστεί ρυθμίσεις που να αφορούν τέτοιου είδους τρόφιμα (Naik et al. 2013).

Στις χώρες της ΕΕ, το τρόφιμα που έχουν υποστεί επεξεργασία με ΥΠ ανήκουν στην κατηγορία των «καινοτόμων τροφίμων» (Κανονισμός 258/97/ΕΕ). Για την εισαγωγή αυτών των καινοτόμων τροφίμων στην αγορά είναι απαραίτητο οι βιομηχανίες που τα εμπορεύονται να πάρουν έγκριση ότι παράγονται σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία όσον αφορά στα θέματα ασφαλείας και την αναμενόμενη διάρκεια ζωής των προϊόντων. Ο «Κανονισμός για τα Καινοτόμα Τρόφιμα» ορίζει πως για τα τρόφιμα αυτά δεν υπάρχουν σημαντικές πληροφορίες εντός της ΕΕ πριν από τις 15 Μαΐου του 1997 και ότι πρέπει να υπόκεινται σε προκαταρκτικό έλεγχο για την ασφάλεια τους πριν εισαχθούν στην αγορά (Heinz et al. 2010). Επιπλέον, οι νομοθεσία ορίζει τα καινοτόμα τρόφιμα ως εξής: τρόφιμα και συστατικά τροφίμων τα οποία κατασκευάζονται με μία μη ευρέως γνωστή μέθοδο παραγωγής, εφόσον αυτή η μέθοδος προκαλεί σημαντικές αλλαγές στη σύνθεση ή τη δομή των τροφίμων ή των συστατικών που επηρεάζουν τη θρεπτική τους αξία, το μεταβολισμό ή την περιεκτικότητάς τους σε ανεπιθύμητες ουσίες (Naik et al. 2013).

Τον Ιούλιο του 2001 μετά την τελευταία συνεδρίαση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής που αφορούσε τα καινοτόμα τρόφιμα, αποφασίστηκε να απλοποιηθούν οι κανονισμοί που αφορούν την συγκεκριμένη κατηγορία τροφίμων. Συγκεκριμένα, εάν είναι δυνατόν να αποδειχθεί ότι το νέο προϊόν (π.χ. το τρόφιμο επεξεργασμένο με ΥΠ) είναι ισοδύναμο με ένα προϊόν που υπάρχει ήδη στην αγορά, τότε το τρόφιμο μπορεί να αντιμετωπιστεί σύμφωνα με τις ρυθμίσεις που υπάρχουν σε εθνικό επίπεδο και δεν θα πρέπει να συμμορφώνονται με τον κανονισμό των «καινοτόμων τροφίμων» (Hugas et al. 2002, Norton & Sun 2008).

Το 2008 η Ευρωπαϊκή Επιτροπή υπέβαλε καινούργια πρόταση για την τροποποίηση του κανονισμού για τα «καινοτόμα τρόφιμα». Ωστόσο το 2011, κατά την παρουσίαση της νέας νομοθεσίας τέθηκε σε συζήτηση το θέμα της κλωνοποίησης, οπότε και δεν επιτεύχθηκε συμφωνία μεταξύ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου. Για το λόγο αυτό, κλήθηκε η Επιτροπή να προετοιμάσει μια ξεχωριστή νομοθετική πρόταση σχετικά με τα κλωνοποιημένα τρόφιμα και να αξιολογήσει τις επιπτώσεις τους. Το 2013, η Επιτροπή υπέβαλε καινούργια πρόταση, σύμφωνα με την οποία τα «καινοτόμα τρόφιμα» θα υπόκεινται σε απλούστερη, σαφέστερη και πιο αποτελεσματική διαδικασία έγκρισης σε ευρωπαϊκό επίπεδο. Η διαδικασία αυτή θα επιτρέπει την ασφαλέστερη και πιο γρήγορη διάθεση των «καινοτόμων τροφίμων» στην αγορά, χωρίς να διακυβεύεται το υψηλό επίπεδο της δημόσιας υγείας. Η πρόταση της Επιτροπής βρίσκεται υπό επεξεργασία από τους νομοθέτες, το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και το Συμβούλιο (European Commission 2015).

Όσον αφορά στον εξοπλισμό της ΥΠ, όλα τα δοχεία πίεσης που χρησιμοποιούνται στην ΕΕ πρέπει να συμμορφώνονται με την οδηγία PED (Pressure Equipment Directive 23/97/ΕΕ) που τέθηκε σε ισχύ το 2002. Ο κανονισμός αυτός αποτελεί επέκταση του προτύπου ασφαλείας «CE» που εφαρμόζεται ήδη στην ΕΕ και πλέον αναγνωρίζεται παγκόσμια. Η σήμανση «CE» υποδηλώνει τη συμμόρφωση με τις υποχρεωτικές προδιαγραφές ασφαλείας. Η παραπάνω οδηγία έχει ως σκοπό την χρήση δοχείων πίεσης που είναι ορθά σχεδιασμένα και κατασκευασμένα και τα οποία έχουν αξιολογηθεί λεπτομερώς ως προς την ασφαλή λειτουργία τους (Norton & Sun 2008).

4.8 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Τα τρόφιμα που μπορούν να υποστούν επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να είναι είτε υγρής είτε στερεής μορφής και πρέπει συνήθως να πληρούν κάποιες προϋποθέσεις για να είναι πιο αποτελεσματική η επεξεργασία. Μια από αυτές είναι να έχουν υψηλή οξύτητα (χαμηλό pH), όπως στα λαχανικά, το γάλα ή τις σούπες, όπου παρατείνεται η διάρκεια ζωής και εξαλείφεται ο κίνδυνος εμφάνισης διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών, παρόλο που δεν καταστρέφονται αποτελεσματικά τα σπόρια (Rastogi 2013). Επιπλέον τα τρόφιμα που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να μπορούν να αντέξουν μια αυξομείωση του όγκου τους της τάξης 15% (Naik et al. 2013). Ωστόσο τα τρόφιμα με μεγάλο ποσοστό περιεχόμενου αέρα όπως, οι φράουλες και τα marshmallows, δεν μπορούν να επεξεργαστούν με αυτή την τεχνολογία, διότι θα συνθλιφθούν κάτω από συνθήκες υπερυψηλής πίεσης. Σημαντικό ρόλο παίζει και η υγρασία, διότι αν το τρόφιμο δεν περιέχει αρκετή υγρασία τότε η ΥΠ δεν είναι τόσο αποτελεσματική στην μείωση του μικροβιακού φορτίου (Rastogi 2013).

Η επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα μεγάλο εύρος τροφίμων, όπως τους χυμούς και τα ποτά, τα φρούτα, τα λαχανικά, τα προϊόντα με βάση το κρέας (μαγειρεμένο και ξηρό ζαμπόν, κ.λπ.), τα θαλασσινά και τα προ-μαγειρεμένα γεύματα με βάση το κρέας και τα λαχανικά (Norton & Sun 2008). Η τεχνολογία ΥΠ αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο στη βιομηχανία τροφίμων, διότι συνδυάζει την ελάχιστη επεξεργασία του τροφίμου, την διασφάλιση της ασφάλειας του με ταυτόχρονη διατήρηση της θρεπτικής αξίας, της γεύσης και του αρώματος του. Με ένα διαρκώς αυξανόμενο αριθμό εμπορικών εφαρμογών υψηλής πίεσης να εισάγονται στην αγορά, η γκάμα των προϊόντων αυξάνεται και εξαπλώνεται παγκοσμίως (Hogan et al. 2005). Τα εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα τροφίμων που υποβάλλονται σε επεξεργασία από την υψηλή πίεση παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.1** (Rastogi 2013).

4.8.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ

Η γνώση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και της διατροφικής αξίας των τροφίμων είναι βασικής σημασίας για την ανάπτυξη νέων προϊόντων, την διασφάλιση της ποιότητας, του οργανοληπτικού ελέγχου αλλά και την ανάπτυξη, τον σχεδιασμό και την αξιολόγηση του εξοπλισμού επεξεργασίας του τροφίμου (Norton & Sun 2008). Οι νέες διαστάσεις στον χώρο της επεξεργασίας των τροφίμων δίνουν την δυνατότητα στις βιομηχανίες να παράγουν προϊόντα με «καθαρότερα» συστατικά και με λιγότερα πρόσθετα, και σε πολλές περιπτώσεις με βελτιωμένη υφή (Balasubramaniam et al. 2008). Η επίδραση της ΥΠ στα τρόφιμα σε βιολογικό επίπεδο, όπως στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών ή στην μεταβολή των λειτουργικών ιδιοτήτων των βιοπολυμερών του τροφίμου, είναι γνωστή εδώ και πολλά χρόνια, αλλά τα τελευταία χρόνια έγινε πραγματικότητα η εμπορική αξιοποίηση των τροφίμων επεξεργασμένων με ΥΠ (Rastogi 2013).

Σήμερα, η τεχνολογία της ΥΠ δίνει τη δυνατότητα της παραγωγής ενός ευρέος φάσματος τροφίμων, και ταυτόχρονα έχει το δυναμικό για τη δημιουργία μιας νέας γενιάς προϊόντων προστιθέμενης αξίας. Γενικά, η τεχνολογία αυτή μπορεί να αντικαταστήσει την χρήση των χημικών συντηρητικών, ή να λειτουργήσει συμπληρωματικά στην συμβατική θερμική επεξεργασία (Rastogi et al. 1994), ακόμα και να την αντικαταστήσει, κι αυτό γιατί η θερμική επεξεργασία πολλές φορές οδηγεί σε ποιοτικές μεταβολές στα τρόφιμα, όπως η καταστροφή ωφέλιμων βιταμινών, η μεταβολή στην υφή και το χρώμα και η δημιουργία δυσάρεστης οσμής και γεύσης (Norton & Sun 2008).

Επιπλέον, θεωρείται πως η επεξεργασία με ΥΠ μπορεί να καταστήσει ανενεργό το επιβλαβές μικροβιακό φορτίο χωρίς να έχει επιπτώσεις στην ποιότητα του τροφίμου (Smelt et al. 1998). Με την αύξηση της πίεσης μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών, αλλά η εφαρμογή υψηλότερης πίεσης μπορεί να προκαλέσει την περαιτέρω μετουσίωση πρωτεϊνών και άλλες δυνητικά επιζήμιες αλλαγές στο τρόφιμο (Norton & Sun 2008).

Πίνακας 4. 1 Εμπορικά διαθέσιμα επεξεργασμένα με ΥΠ προϊόντα στην παγκόσμια αγορά (Hogan et al. 2005)

ΠΡΟΪΟΝ	ΟΝΟΜΑ ΕΤΑΙΡΙΑΣ
<i>Προϊόντα φρούτων και λαχανικών</i>	
Χυμός πορτοκάλι	Ultifruit, Γαλία
Χυμός μανταρίνι	Wakayama Food Industries, Ιαπωνία
Χυμοί φρούτων	Pampryl, Γαλλία
Χυμοί φρούτων και λαχανικών	Odwalla, Η.Π.Α
Χυμός μήλου	Frubaca, Πορτογαλλία
Μαρμελάδες, ζελέ, σάλτσες φρούτων, γιαούρτι	Meida-Ya, Ιαπωνία
Μαρμελάδες	Solofruita, Ιταλία
Γκουακαμόλε, ντιπ, έτοιμα γεύματα, χυμοί φρούτων	Avomex, Η.Π.Α
<i>Προϊόντα Ζωικής Προέλευσης</i>	
Κρέας βοείου	Fuji Ciku Mutterham, Ιαπωνία
Χούμους	Hannah International, Η.Π.Α
Ζαμπόν	Hormel Foods, Η.Π.Α
Προϊόντα πουλερικών	Purdue Farms, Η.Π.Α
Στρείδια	Motivatit Seafoods, Goose Point Oysters, Joey Oysters, Η.Π.Α
Ζαμπόν σε φέτες, τάπας	Esruña, Ισπανία

Η ΥΠ δύσκολα επηρεάζει τα μικρά μόρια, όπως οι αρωματικές ενώσεις, οι βιταμίνες και οι χρωστικές ουσίες, σε σύγκριση με την θερμική επεξεργασία. Ως εκ τούτου, η ποιότητα του τροφίμου που έχει υποστεί παστερίωση με εφαρμογή πίεσης είναι παρόμοια με αυτή του φρέσκου τροφίμου (Rastogi 2013). Ούτε ο συνδυασμός των μεθόδων, δηλαδή επεξεργασία του τροφίμου με ΥΠ σε συνδυασμό με ήπια θέρμανση, επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό το περιεχόμενο σε βιταμίνες των φρούτων και των λαχανικών. Η σταθερότητα των βιταμινών επηρεάζεται σημαντικά από χημικές αντιδράσεις που πιθανόν να επιταχύνονται με αύξηση της πίεσης και της θερμοκρασίας. Ως αποτέλεσμα, η επεξεργασία με ΥΠ σε συνδυασμό με υψηλές θερμοκρασίες θα μπορούσε να οδηγήσει σε υποβάθμιση των περιεχομένου σε βιταμίνες των τροφίμων. Δεδομένου ότι ο μηχανισμός των χημικών αντιδράσεων που πραγματοποιούνται στα τρόφιμα σε ατμοσφαιρική πίεση δεν είναι δυνατόν να προεκταθεί άμεσα και για συνθήκες υπερυψηλής πίεσης, ειδικά όταν συνδυάζεται με υψηλές θερμοκρασίες, είναι πιθανόν η επεξεργασία με ΥΠ σε συνδυασμό υψηλές θερμοκρασίες να προκαλεί κάποιες αναμενόμενες ή μη και επιθυμητές ή μη χημικές αντιδράσεις, οι οποίες δύναται να επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα την ασφάλεια και ποιότητα των τροφίμων (Oey et al. 2008). Στα βιολογικά συστήματα, οι αλλαγές που προκαλούνται από την ΥΠ περιλαμβάνουν τη μετουσίωση των πρωτεϊνών, την ζελατινοποίηση, υδρόφοβες αντιδράσεις και την αλλαγή φάσης στα λιπίδια (και συνεπώς στις κυτταρικές μεμβράνες) (Heremans 1995).

Τέλος, στις βιταμίνες A, E και αυτές του συμπλέγματος B (B1:θειαμίνη, B2:ριβοφλαβίνη, B3:νιασίνη, B5:παντοθενικό οξύ και B6:πυριδοξίνη), μελέτες έχουν δείξει ότι επεξεργασία με ΥΠ σε συνθήκες επεξεργασίας 200-600 MPa και 20-40°C για χρόνους επεξεργασίας που κυμαίνονταν από μερικά δευτερόλεπτα έως και 30 min, τόσο συστημάτων μοντέλων (Butz et al. 2007) όσο και πραγματικών τροφίμων (Gabronska et al. 2005), δεν ήταν ικανή να επηρεάσει τη σταθερότητα των βιταμινών αυτών. Επιπλέον, φαίνεται ότι όσον αφορά στη βιταμίνη A, το περιεχόμενό της σε πραγματικά τρόφιμα αυξήθηκε μετά από επεξεργασία με ΥΠ (σε ποσοστό 38-45%), κάτι το οποίο θα μπορούσε να εξηγηθεί λόγω της ενισχυμένης εκχύλισής της υπό συνθήκες ΥΠ (Sánchez-Moreno et al. 2005).

4.8.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η μελέτη για την εφαρμογή της ΥΠ στο γάλα ξεκίνησε από τον Hite (1899) και έδειξε πως είχε σημαντική επίδραση τόσο στη μείωση του μικροβιακού φορτίου του γάλακτος όσο και στην αύξηση της διάρκειας ζωής του. Πέρα από αυτά τα χαρακτηριστικά, η ΥΠ επηρεάζει σημαντικά τα συστατικά και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Ένα από αυτά τα συστατικά είναι οι πρωτεΐνες, καθώς η μεταβολή στις λειτουργικές τους ιδιότητες έχει ως αποτέλεσμα μεταβολές και στη δομή τόσο του γάλακτος όσο και των διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων. Παρακάτω παρατίθενται οι σημαντικότερες βιβλιογραφικές αναφορές της επίδρασης της ΥΠ στο γάλα αλλά και στο γιαούρτι, που αποτέλεσε και το αντικείμενο μελέτης της παρούσας εργασίας.

4.8.2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟ ΦΟΡΤΙΟ

Ο κύριος στόχος κατά την επεξεργασία των τροφίμων με ΥΠ είναι η καταστροφή των μικροοργανισμών. Οι ευεργετικές ιδιότητες της ΥΠ στα τρόφιμα γίνονται εμφανείς σε πίεση μεγαλύτερη των 400 MPa, αφού απενεργοποιεί αποτελεσματικά τα αλλοιογόνα και παθογόνα βακτήρια που είναι παρόντα στο γάλα. Η αντίσταση των μικροοργανισμών στην πίεση ποικίλει σημαντικά ανάλογα με το εύρος της πίεσης που εφαρμόζεται, τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της επεξεργασίας, καθώς και από το είδος του μικροοργανισμού.

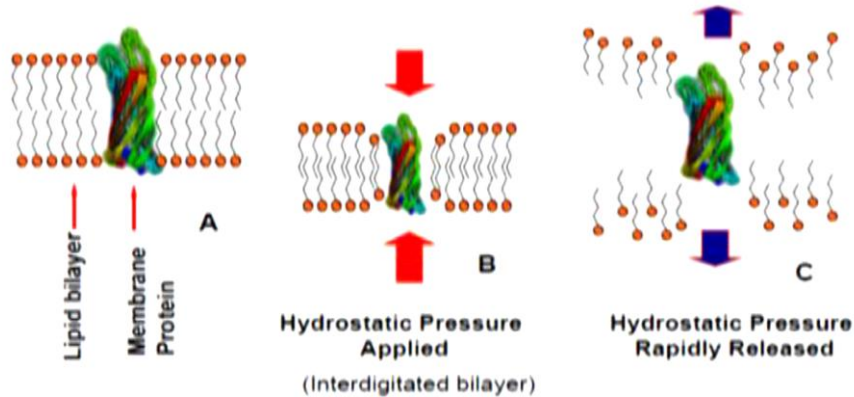
Η φύση του τροφίμου είναι επίσης σημαντική, αφού μπορεί να περιέχει συστατικά που προστατεύουν τον μικροοργανισμό από την ΥΠ. Γενικά, τα gram-θετικά βακτήρια παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντοχή σε σχέση με τα gram-αρνητικά, τις ζύμες και τους μύκητες, λόγω της παρουσίας του τεχοϊκού οξέος (ενός βακτηριακού πολυσακχαρίτη). Από την άλλη πλευρά, τα σπόρια είναι πιο ανθεκτικά από τα βλαστικά κύτταρα γιατί περιέχουν διπυκολινικό οξύ, πλούσιο σε ασβέστιο, και αυτό τα προστατεύει από τον ιοντισμό (Smelt 1998).

Ομάδες μικροοργανισμών που παρουσιάζουν αντοχή στην θερμότητα παρουσιάζουν επίσης αντοχή και στην πίεση και συγκεκριμένα τα κύτταρα της εκθετικής φάσης είναι πιο ευαίσθητα από αυτά της στατικής φάσης. Ο αριθμός των ζυμών, των μυκήτων, των ψυχότροφων μικροοργανισμών και των κολοβακτηριδίων μειώνεται περισσότερο με την εφαρμογή της πίεσης σε σχέση με τα όξινα και τα ανθεκτικά στη θέρμανση βακτήρια και τους πρωτεολυτικούς μικροοργανισμούς (Kolakowski et al. 1997). Τα βλαστικά βακτηριακά κύτταρα απενεργοποιούνται σε πιέσεις από 400 έως 600 MPa. Η αδρανοποίηση των ιών εξαρτάται θεωρητικά από την μετουσίωση του καψιδίου των πρωτεϊνών που είναι απαραίτητες για την προσκόλληση του κυττάρου με τον ξενιστή (Naik et al. 2013).

Στην **Εικόνα 4.4** απεικονίζεται η βλάβη των κυτταρικών μεμβρανών κατά τον κύκλο εφαρμογής της ΥΠ: συμπίεση της κυτταρικής μεμβράνης κατά την εφαρμογή της πίεσης και απότομη διαστολή του λιπιδίου διπλής στρώσης μετά την απελευθέρωση της πίεσης, κάτι που οδηγεί σε καταστροφή και σε απώλεια της ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης και ως εκ τούτου σε αδυναμία αναπαραγωγής των κυττάρων. Αφού υποστούν βλάβη, τα κύτταρα δεν είναι σε θέση να ελέγξουν την μεταφορά νερού και ιόντων διαμέσου της μεμβράνης με αποτέλεσμα να καταρρέουν. Όταν το γάλα επεξεργάζεται στα 200 MPa παρουσιάζει τα ίδια χαρακτηριστικά με το θέρμισμα, δηλαδή μείωση σε μεγάλο βαθμό των αερόβιων και ψυχότροφων πληθυσμών (Lopez-Fandino et al. 1996). Έχει αναφερθεί ότι η επεξεργασία του γίδινου γάλακτος στα 500 MPa για 15 λεπτά παράγει τελικό προϊόν με χαρακτηριστικά όπως το παστεριωμένο (Buffa et al. 2001).

Τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες σχετικά με την απενεργοποίηση των παθογόνων και των αλλοιογόνων μικροοργανισμών που υπάρχουν στο γάλα από την επεξεργασία με ΥΠ και φαίνεται να έχει τα ίδια αποτελέσματα με την θερμική επεξεργασία. Έρευνες έχουν δείξει πως το γάλα που έχει υποστεί πίεση της τάξης των 400-600 MPa παρουσιάζει το ίδιο μικροβιακό προφίλ με αυτό που έχει υποστεί θερμική παστερίωση (72°C για 15

s), αλλά όχι με το αποστειρωμένο γάλα, λόγω των σπορίων που παρουσιάζουν μεγάλη ανθεκτικότητα στην ΥΠ (Rastogi 2013).



Εικόνα 4. 4 Επίδραση της ΥΠ στην κυτταρική μεμβράνη (Naik et al. 2013)

Έχουν πραγματοποιηθεί, επίσης, πολλές έρευνες που αφορούν στην κινητική απενεργοποίησης των μικροοργανισμών στο γάλα, που είτε αποτελούν την ενδογενή χλωρίδα είτε έχουν προστεθεί σε αυτό, και έχουν δείξει πως η περιοδική εφαρμογή ΥΠ είναι πολύ αποτελεσματική στη θανάτωση παθογόνων μικροοργανισμών που εμφανίζονται στο γάλα, όπως οι *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, κ.ά. (Vachon et al. 2002).

Έχουν αναφερθεί πολλοί παράγοντες που φαίνεται να επιδρούν προστατευτικά ή συνεργιστικά στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών στο γάλα (Rastogi et al. 2013). Στους παράγοντες που επιδρούν προστατευτικά στην απενεργοποίηση μικροοργανισμών, όπως π.χ. η *Escherichia coli*, περιλαμβάνονται τα πρωτεϊνικά κλάσματα, η καζεΐνη και η λακτόζη (Narisawa et al. 2008), ενώ στους συνεργιστικούς παράγοντες περιλαμβάνονται η χρήση ήπιων θερμοκρασιών (30-50°C) ή/και η χρήση αντιμικροβιακών ουσιών (Morgan et al. 2000). Τα λιπαρά του γάλακτος πιθανόν να ασκούν προστατευτική δράση έναντι της μικροβιακής θανάτωσης στην περίπτωση που ξεπερνούν το 5% (Ramaswamy et al. 2009). Προστατευτική επίσης δράση φαίνεται να έχουν και τα δισθενή κατιόντα του ασβεστίου και του μαγνησίου λόγω της σταθεροποιητικής τους δράσης στις κυτταρικές μεμβράνες (Huppertz et al. 2005, Rastogi 2013).

4.8.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος, σε φυσική κατάσταση, σταθεροποιούνται με ομοιοπολικούς δεσμούς (πεπτιδικούς και δισουλφιδικούς δεσμούς), ηλεκτροστατικές και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις καθώς και γέφυρες υδρογόνου. Οι ομοιοπολικοί δεσμοί παραμένουν ανεπηρέαστοι από την εφαρμογή της υψηλής πίεσης και συνεπώς η πρωτοταγής δομή των

πρωτεϊνών παραμένει άθικτη κατά την διάρκεια της επεξεργασίας της ΥΠ. Η σειρά που παρουσιάζουν ευαισθησία οι διάφοροι δεσμοί κατά την εφαρμογή της ΥΠ είναι: υδροφοβικοί δεσμοί> ηλεκτροστατικοί δεσμοί> δεσμοί υδρογόνου> ομοιοπολικοί δεσμοί (Naik et al. 2013).

Από την άλλη πλευρά, οι πρωτεΐνες ορού δείχνουν να επηρεάζονται από την εφαρμογή της πίεσης. Πιο συγκεκριμένα, το ποσό του μη καζεϊνικού αζώτου στον ορό μειώνεται με την αύξηση της πίεσης, γεγονός που υποδηλώνει τη μετουσίωση τους καθώς και την αδυναμία διαλυτοποίησης. Ανάμεσα στις πρωτεΐνες ορού η β-γαλακτογλοβουλίνη (β-Lg) παρουσιάζει τη μέγιστη ευαισθησία στην μετουσίωση ως αποτέλεσμα της εφαρμογής της πίεσης, και ακολουθεί η ανοσοσφαιρίνη και στη συνέχεια η α-γαλακτοαλβουμίνη (α-La). Η διαφορά στη σταθερότητα της α-La και της β-Lg μπορεί να οφείλεται στην πιο άκαμπτη μοριακή δομή της πρώτης, και εν μέρει στην παρουσία ενδομοριακών δισουλφιδίων (-S-S-) και την έλλειψη ελεύθερων υδροσουλφιδίων (-SH) στην α-La. Μετά την επεξεργασία των πρωτεϊνών ορού με ΥΠ έχουν παρατηρηθεί καλύτερα γαλακτώματα καθώς και καλύτερος σχηματισμός αφρού, ενώ βελτιωμένες παρατηρούνται οι ιδιότητες της υφής στο τελικό όξινο πήγμα (Johnston et al. 1992). Αυτό δίνει τη δυνατότητα της εφαρμογής της ως τεχνο-λειτουργικό συστατικό σε διάφορα τρόφιμα.

Για τις υπόλοιπες πρωτεΐνες ορού και το πώς μετουσιώνονται σε σχέση με την πίεση που εφαρμόζεται υπάρχουν λίγα στοιχεία. Κάποιες έρευνες έδειξαν για την αλβουμίνη βόειου ορού στο ακατέργαστο γάλα, ότι ήταν ανθεκτική σε πιέσεις μέχρι 400 MPa, ενώ οι ανοσοσφαιρίνες στο γίδινο γάλα ήταν ανθεκτικές σε πιέσεις έως 300 MPa (Huppertz et al. 2002).

Όταν το γάλα υποβάλλεται σε επεξεργασία με ΥΠ, τα μικκύλια της καζεΐνης αποσυντίθενται σε μικρότερα σωματίδια. Η κατανομή του μεγέθους των σφαιρικών μικκυλίων μειώνεται από 200 σε 120 nm, ενώ σημαντικές αλλαγές παρατηρούνται κατά την εφαρμογή πίεσης από 150 μέχρι 400 MPa στους 20°C. Η επεξεργασία με ΥΠ αυξάνει την μεταφορά μεμονωμένων καζεϊνών από την κολλοειδή στην διαλυτή φάση (Naik et al. 2013). Ο διαχωρισμός των καζεϊνών πραγματοποιείται με τη σειρά *κ-καζεΐνες*>*β-καζεΐνες*>*α₁-καζεΐνες*>*α₂-καζεΐνες*. Η σειρά αυτή αντιστοιχεί σε μεγάλο βαθμό με την περιεκτικότητα φωσφορικής σερίνης στις καζεΐνες, υποδεικνύοντας ότι οι καζεΐνες είναι πιο στενά συνδεδεμένες και διασπώνται σε μικρότερο βαθμό (Needs et al. 2000a). Η στρατηγική αυτή μπορεί να βρει εφαρμογή στην παρασκευή ειδών καζεΐνης με εμπλουτισμένα συστατικά ή την απομόνωση καζεϊνών για βελτιωμένη βιολειτουργικότητα.

4.8.2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΕΝΖΥΜΑ

Τα περισσότερα από τα σημαντικά τεχνολογικά ένζυμα στο γάλα χάνουν τη δραστηριότητά τους μόνο μετά από εφαρμογή πιέσεων μεγαλύτερων των 300 MPa. Η αλκαλική φωσφατάση (ALP), ένα ένζυμο-δείκτης για την παστερίωση του γάλακτος, φαίνεται να είναι αρκετά ανθεκτική στην πίεση. Μετά από επεξεργασία στα 400 MPa για 60 min, η ένωση ALP δεν είχε αδρανοποιηθεί, ενώ πλήρης αδρανοποίηση παρατηρήθηκε μετά από επεξεργασία στα 800 MPa για 8 min. Δύο ακόμα ένζυμα του γάλακτος που προτείνονται ως δείκτες της θερμικής παστερίωσής του, η λακτοϋπεροξειδάση και η γ-γλουταμυλτρανσεπτιδάση, παρουσιάζουν μεγάλη ανθεκτικότητα σε

πίεσεις έως τα 400 MPa στους 20-25°C. Τέλος, η δράση της πλασμίνης μειώνεται στα 300 MPa και ως εκ τούτου το ποσοστό πρωτεόλυσης είναι χαμηλότερο από εκείνο του νωπού γάλακτος (Naik et al. 2013, Huppertz et al. 2002).

4.8.2.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ

Η εφαρμογή της ΥΠ μειώνει το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να προκληθεί κρυστάλλωση του λίπους και αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η θερμοκρασία μετάπτωσης στερεού/υγρού του λίπους του γάλακτος αυξάνεται σε υψηλή πίεση. Παραδόξως, η μεμβράνες των λιποσφαιριδίων δεν καταστράφηκαν μετά την επεξεργασία, ακόμη και μέχρι τα 800 MPa και η μέση διάμετρος τους παραμένει σταθερή. Στο πρόβειο γάλα, πίεση ύψους 500 MPa επιφέρει αλλαγές στο μέγεθος και στην κατανομή των λιποσφαιριδίων. Στους 25 και στους 50°C η επεξεργασία με ΥΠ φάνηκε να αυξάνει τον αριθμό των μικρών σφαιριδίων (διάμετρος 1-2 μm), ενώ στους 4°C παρατηρήθηκε το αντίθετο (Chawla et al. 2011). Μετά την επεξεργασία πραγματοποιείται κάποια ενσωμάτωση των πρωτεϊνών ορού στα λιποσφαιρίδια, αλλά εφόσον δεν υπάρχει αύξηση της λιπόλυσης, η μεμβράνη δεν έχει υποστεί ζημιά (Buchheim 1996, Naik et al. 2013).

4.8.2.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΗ ΛΑΚΤΟΖΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η λακτόζη που είναι παρούσα στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορεί να ισομεριστεί σε λακτουλόζη με επιβολή θέρμανσης και στη συνέχεια να αποικοδομηθεί προς σχηματισμό οξέων και άλλων σακχάρων. Ωστόσο, με επιβολή πιέσεων της τάξης των 100-400 MPa για 10-60 min στους 25°C δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στην λακτόζη, γεγονός που υποδηλώνει πως η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ δεν επιφέρει καμία αντίδραση Maillard ή αντίδραση ισομερισμού της λακτόζης στο γάλα (Lopez Fandino et al. 1996, Trujillo et al. 2002).

4.8.2.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Οι αλλαγές που προκαλούνται στην ισορροπία των μετάλλων και των ιχνοστοιχείων στο γάλα από τη θέρμανση, την αύξηση της οξύτητας και την αποθήκευση σε χαμηλή θερμοκρασία έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό, σε αντίθεση με τις επιπτώσεις της ΥΠ στα ανόργανα αυτά συστατικά. Η ανόργανη ισορροπία στο γάλα αναφέρεται στην διαλυτότητα και στον ιοντισμό των αλάτων του γάλακτος, όπως για παράδειγμα, το ασβέστιο που συναντάται σε διαφορετικές ενώσεις μέσα στο γάλα. Η δράση της ΥΠ στα ανόργανα συστατικά του γάλακτος μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες: (1) επίδραση στην κατανομή μεταξύ της διαχεόμενης και της κολλοειδούς φάσης και (2) επίδραση στον ιοντισμό (Huppertz et al. 2002)

Επιπρόσθετα, παρατηρείται αύξηση της περιεκτικότητας του διαχεόμενου ασβεστίου μετά το πέρας της ΥΠ. Στην περίπτωση που το γάλα έχει ήδη θερμανθεί, η επεξεργασία με ΥΠ

διαλυτοποιεί τόσο το εγγενές όσο και το θερμικό ίζημα του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου (CCP), κάτι που οδηγεί σε ελαφρά αύξηση του pH (Johnston et al. 1992). Σε γενικές γραμμές, το pH αυξάνεται μετά από επεξεργασία με ΥΠ, ωστόσο η αλλαγή αυτή στο pH είναι αναστρέψιμη (Naik et al. 2013).

4.8.2.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΟ ΧΡΩΜΑ

Το άσπρο χρώμα του γάλακτος οφείλεται στη σκέδαση του φωτός από σφαιρίδια λίπους και καζεϊνικών μικκυλίων. Η τιμή φωτεινότητας κατά Hunter (τιμή L) του γάλακτος, η οποία εκφράζεται ως μέτρο λευκότητας (Harte et al. 2003), εμφανίζεται μειωμένη μετά την επεξεργασία με ΥΠ, λόγω της αποσύνθεσης των καζεϊνικών μικυλίων, με αποτέλεσμα το γάλα να χάνει το άσπρο του χρώμα και να γίνεται πιο κιτρινωπό. Αυτό μάλλον οφείλεται επίσης και στη μείωση του όγκου των μικκυλίων της καζεΐνης (Chawla et al. 2011).

Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι αν το γάλα μετά την επεξεργασία με ΥΠ, υποστεί και θερμική επεξεργασία αποκτά και πάλι το άσπρο του χρώμα. Αυτό πιθανόν οφείλεται στην ιδιότητα που παρουσιάζουν τα μικύλλια της καζεΐνης να ανασυσσωματώνονται και να επανέρχονται σχεδόν στην αρχική τους μορφή. Αυτό συμβαίνει για πίεση από 300 έως 676 MPa που ακολουθείται από θερμική επεξεργασία (Chawla et al. 2011). Η επεξεργασία του γάλακτος στα 200 MPa παρουσιάζει μικρή μεταβολή της τιμής L, ενώ από 250 έως 400 MPa παρατηρείται ότι η τιμή L μειώνεται σημαντικά. Όταν το αποβουτυρωμένο γάλα επεξεργάζεται στα 600 MPa για 30 min, η τιμή L μειώνεται από 78 σε 42 και σαν αποτέλεσμα το αποβουτυρωμένο γάλα γίνεται σχεδόν ημιδιαφανές (Naik et al. 2013).

4.8.2.8 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Η ΥΠ επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την δομή και τα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών του γάλακτος, αλλά βελτιώνει και τις λειτουργικές τους ιδιότητες. Οι μεταβολές αυτές στη χημεία των πρωτεϊνών αλλά και οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις έχουν δείξει να βελτιώνουν τις ιδιότητες των τελικών όξινων πηγμάτων. Το γιαούρτι, όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, βρίσκεται σε τέσσερις μορφές: ανακατεμένου τύπου, τύπου σετ, πόσιμο και στραγγιστό. Τα κυριότερα ελαττώματα του γιαουρτιού είναι η χαμηλή ακαμψία ή το μειωμένο ιξώδες στα γιαούρτια τύπου σετ ή στα ανακατεμένου τύπου αντίστοιχα, και η αποβολή του ορού. Για τη βελτίωση της ποιότητας και της διατηρησιμότητας του γιαουρτιού έχει προταθεί η χρήση της τεχνολογία της ΥΠ είτε στο γάλα που προορίζεται για γιαούρτι ή στο τελικό όξινο πήγμα (Trujillo et al. 2002), είτε στα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετα στο γιαούρτι (Walsh-O'Grady et al. 2001).

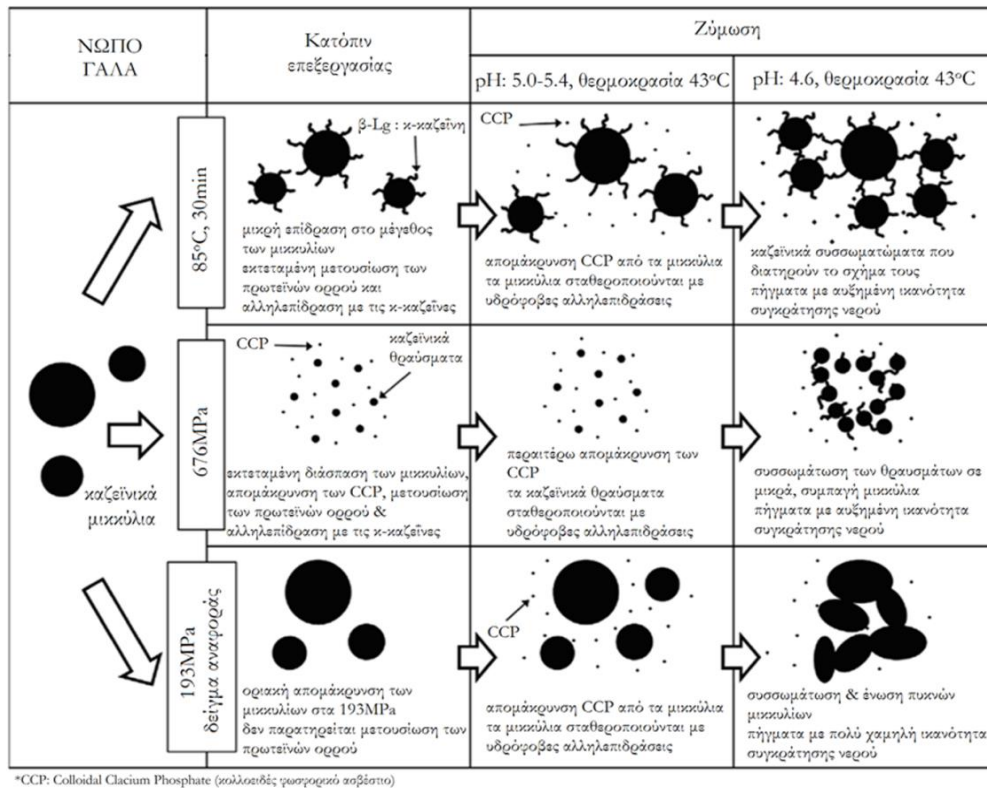
Τα γιαούρτια τύπου σετ που παρασκευάστηκαν από γάλα που είχε επεξεργαστεί με ΥΠ (100-600 MPa, έως 1 h) έδειξαν βελτιωμένη υφή και συγκράτηση του ορού. Η υψηλή κατακράτηση του ορού παρουσιάστηκε σε όλα τα πήγματα που το γάλα είχε επεξεργαστεί με ΥΠ, αλλά η

σφικτότητα αυξανόταν σε συνάρτηση με την πίεση, ενώ παρέμενε σταθερή κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 4°C για 20 ημέρες (Ferragut et al. 2000). Η αυξημένη οξύτητα οφείλεται στη διάσπαση των μικκυλίων της καζεΐνης που έχει ως αποτέλεσμα μια μεγαλύτερη αποτελεσματική περιοχή στην επιφάνεια αλληλεπίδρασης. Οι Tsendou et al. (2013) μελέτησαν πως η εφαρμογή της ΥΠ (600 MPa στους 55°C για 10 min) στο γάλα επιδρά στην διατηρησιμότητα του γιαουρτιού τύπου σετ σε σχέση με το θερμικά επεξεργασμένο γάλα (85°C για 30 min), και κατέληξαν πως το πρώτο εμφάνισε καλύτερα χαρακτηριστικά υφής και μειωμένη αποβολή ορού, ενώ ήταν αποδεκτό μετά από 5 εβδομάδες από τους δοκιμαστές. Αντίθετα, το γιαούρτι από το θερμικά επεξεργασμένο γάλα δεν ήταν αποδεκτό, λόγω της συρρικνωμένης εμφάνισης, του ελεύθερου ορού και της αδύναμης και ινώδους δομής.

Οι Harte et al. (2003) μελέτησαν πως ο συνδυασμός της ΥΠ και της ήπιας θερμοκρασίας επιδρά σε γιαούρτια τύπου σετ. Ο συνδυασμός πίεσης (300-676 MPa για 5 min) και της θέρμανσης (85°C για 30 min) πριν την εκκίνηση της επώασης, είχε ως αποτέλεσμα πήγματα με αυξημένη ακαμψία, αντοχή στη θραύση και αυξημένη κατακράτηση ορού, σε σχέση με αυτά που είχαν επεξεργαστεί μόνο θερμικά. Ωστόσο το ο βαθμός αποβολής του ορού αυξανόταν με την υπερβολική αύξηση της πίεσης, ενώ παρατηρήθηκαν καλύτερα πήγματα όταν η ΥΠ ακολουθούσε τη θερμική επεξεργασία. Στην **Εικόνα 4.5** φαίνεται η επίδραση της ΥΠ στα καζεϊνικά μικκύλια και στο τελικό πήγμα σε σχέση με τη συμβατική θερμική επεξεργασία. Αξίζει να σημειωθεί πάντως ότι είναι δύσκολο να ειπωθεί με σιγουριά για το εάν υψηλότερες πιέσεις ή υψηλότεροι χρόνοι εφαρμογής της πίεσης επιδρούν θετικά ή αρνητικά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού και μέχρι στιγμής υπάρχουν αρκετές αντικρουόμενες αναφορές στη βιβλιογραφία (Loveday et al. 2013).

Στο γιαούρτι ανακατεμένου τύπου, οι Knudsen et al. (2006) παρατήρησαν πως το τελικό προϊόν είχε προέλθει από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ (600 MPa για 20min) είχε παρόμοιο ρεολογικό προφίλ με αυτό που είχε προέλθει από γάλα που είχε επεξεργαστεί θερμικά (90°C για 30 min). Τα γιαούρτια από γάλα που είχε επεξεργαστεί στα 400 MPa αντί για τα 600 MPa για 20 min, ήταν κατώτερης ποιότητας όσον αφορά στα ρεολογικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο, σε μια άλλη έρευνα, οι Anema et al. (2005) εξέτασαν τα ρεολογικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού ανακατεμένου τύπου που είχε παραχθεί από γάλα επεξεργασμένο στα 400 MPa (για 60 min ή για 120 min) σε σύγκριση με το θερμικά επεξεργασμένο γάλα (90°C για 15 min), και κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η επεξεργασία στα 400 MPa για 60 min έδωσε το πιο συνεκτικό και σφικτό πήγμα σε σχέση με τις άλλες επεξεργασίες.

Επιπρόσθετα, η καμπύλη ζύμωσης στο γιαούρτι ανακατεμένου τύπου από ανασυσταμένο και αποβουτυρωμένο γάλα που είχε υποστεί επεξεργασία με ΥΠ δεν φάνηκε να επηρεάζεται. Στην περίπτωση γιαουρτιού που προέρχεται από αποβουτυρωμένο γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (25°C), πριν ή μετά από τη θερμική επεξεργασία, φάνηκε να παρουσιάζει παρόμοιο ιξώδες με το γιαούρτι που προερχόταν από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Χαμηλότερο ιξώδες παρουσίασαν τα δείγματα που είχαν ζυμωθεί από γάλα που είχε επεξεργαστεί με πίεση, αλλά σε υψηλότερες θερμοκρασίες, και οφειλόταν σε αλλαγές στις αλληλεπιδράσεις και στη δομή των πρωτεϊνών του γάλακτος (Udabage et al. 2010).



Εικόνα 4. 5 Επίδραση της επεξεργασίας του γάλακτος στα καζεϊνικά μικύλλια και τη δομή του σχηματιζόμενου πηγματος (Harte et al. 2003)

Η επεξεργασία με ΥΠ (550 MPa στους 4°C για 10 min) θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή πιο σταθερού και πιο λείου γιαουρτιού φρούτων. Στα προϊόντα που είχαν προέλθει από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ δεν παρατηρήθηκαν αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί ακόμα και μετά από 60 ημέρες αποθήκευσης στους 4°C (Walker et al. 2006).

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο συσκευασμένο προϊόν από τους Tanaka & Hatanaka (1992), έδειξαν που η εφαρμογή πίεσης της τάξης των 200-300 MPa δεν φάνηκε να επηρεάζουν την βιωσιμότητα των θερμοφίλων γαλακτοβακίλλων ή την υφή του προϊόντος, αλλά εμπόδισαν την ανάπτυξη επιπλέον οξύτητας στο προϊόν, πιθανότατα λόγω τραυματισμού των κυττάρων και επομένως βραδύτερης ανάπτυξής τους. Όταν στο τελικό προϊόν εφαρμόστηκε πίεση 250 MPa για 15 min σε συνδυασμό με πολύ ήπια θέρμανση (18°C), παρατηρήθηκαν κάποιες μικρές μεταβολές στη γεύση και στο άρωμα, η συνοχή και η υφή βελτιώθηκαν, και επιπλέον παρατηρήθηκε αυξημένη κατακράτηση ορού (Jankowska et al. 2012). Οι Reys et al. (1999, 2001) έδειξαν ότι είναι δυνατή η παράταση της διάρκειας ζωής του γιαουρτιού με την πλήρη απενεργοποίηση των γαλακτοβακίλλων. Το γιαούρτι μετά από εφαρμογή πίεσης (550 MPa) φάνηκε να διατηρεί τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του περισσότερο από τα δείγματα δείκτες κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης τους για 4 εβδομάδες στους 4°C.

Οι Walsh-O'Grady et al. (2001) εξέτασαν με ποιο τρόπο θα επηρέαζε το τελικό όξινο πήγμα, η απευθείας εφαρμογή ΥΠ σε συμπυκνώματα πρωτεϊνών ορού που προορίζονται για πρόσθετα του γιαουρτιού. Η χρήση πίεσης της τάξης των 700 MPa για 20 min βελτίωσε τα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος σε σχέση με το ανεπεξεργαστο προϊόν. Ωστόσο, τα συμπυκνώματα των πρωτεϊνών ορού που είχαν επεξεργαστεί θερμικά (78°C για 30 min ή 90°C για 10 min) έδειξαν να έχουν καλύτερα αποτελέσματα στο τελικό όξινο πήγμα.

Μια ακόμα εφαρμογή της ΥΠ στην τεχνολογία του γιαουρτιού αποτελεί η χρήση της με σκοπό την ομογενοποίηση του προς ζύμωση γάλακτος. Στην περίπτωση αυτή εφαρμόζονται χαμηλές πιέσεις (50-300 MPa) σε συνδυασμό με ήπια θέρμανση (20-40°C). Τα προϊόντα που παράγονται από ομογενοποιημένο με ΥΠ γάλα, συνήθως γιαούρτια ανακατεμένου τύπου, εμφανίζουν αρκετά χαμηλότερες τιμές συναίρεσης σε σχέση με τα δείγματα που παράγονται από γάλα ομογενοποιημένο με το συμβατικό τρόπο (Hernandez & Harte 2008, Serra et al. 2008). Παράλληλα, ο ρυθμός ζύμωσης φαίνεται να μην επηρεάζεται από την εφαρμογή της πίεσης και ο αριθμός των θερμοφίλων βακτηρίων παραμένει σχεδόν αμετάβλητος (Serra et al. 2007, 2009).

Από τα παραπάνω στοιχεία είναι φανερό ότι η εφαρμογή της ΥΠ κατά την παραγωγική διαδικασία του γιαουρτιού μπορεί να αποτελέσει ένα ενδιαφέρον πεδίο έρευνας, είτε όταν αυτή πραγματοποιείται στο προς ζύμωση γάλα είτε στο τελικό προϊόν, με σκοπό και στις δύο περιπτώσεις, τη βελτίωση των ποιοτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος, αλλά και την ενδεχόμενη αύξηση της διάρκειας ζωής του. Η επίδραση της επεξεργασίας του γάλακτος με ΥΠ στα δομικά, φυσικοχημικά και ρεολογικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού έχει μελετηθεί εκτενώς σε περιπτώσεις όπου χρησιμοποιείται γάλα αγελαδινής προέλευσης για την παραγωγή είτε σετ είτε ανακατεμένου τύπου γιαουρτιού, και σε μικρότερη κλίμακα σε περιπτώσεις όπου χρησιμοποιείται γάλα γίδινης προέλευσης. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχουν αντίστοιχες βιβλιογραφικές αναφορές που να σχετίζονται με τη χρήση και επεξεργασία με ΥΠ γάλακτος πρόβειας προέλευσης, που αντιπροσωπεύει μία πολύ κοινή προέλευση γάλακτος για την παραγωγή γιαουρτιού τόσο στις Βαλκανικές όσο και στις χώρες της Ανατολικής Ευρώπης (π.χ. Ελλάδα, Βουλγαρία, Ρουμανία κ.ά.). Παράλληλα, δεν έχουν υπάρξει βιβλιογραφικές αναφορές για την επίδραση της ΥΠ στα βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού. Τέλος, μικρής κλίμακας έρευνα έχει πραγματοποιηθεί και για την δυνατότητα της συνδυαστικής εφαρμογής της ΥΠ με άλλες τεχνολογίες που επιδρούν στα δομικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνικών πλεγμάτων, όπως η ενζυμική τροποποίηση των πρωτεϊνών.

4.9 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η τεχνολογία της ΥΠ στα τρόφιμα εμφανίζει αρκετά **πλεονεκτήματα**, τα οποία μπορούν να συνοψισθούν στα ακόλουθα:

- Απενεργοποιεί παθογόνους και αλλοιογόνους μικροοργανισμούς και ένζυμα, αναπτύσσει ή απενεργοποιεί βακτηριακά σπόρια, επεκτείνει τη διατηρησιμότητα των τροφίμων, μειώνει την πιθανότητα τροφिमογενών ασθενειών, προάγει την ωρίμανση των τυριών και ελαχιστοποιεί την αμαύρωση των τροφίμων.
- Διατηρεί τα φυσικά αντιμικροβιακά συστήματα χωρίς να αλλάζει την οργανοληπτική και διατροφική ποιότητα των τροφίμων και επεκτείνει περίπου 2 με 3 φορές την διάρκεια ζωής του τροφίμου.
- Η σημαντική μείωση της θέρμανσης που επιβάλλεται στο τρόφιμο ελαχιστοποιεί την αποικοδόμηση των συστατικών των τροφίμων.
- Διατήρηση της γεύσης, του χρώματος και της θρεπτικής αξίας του προϊόντος.
- Δυνατότητα σχεδιασμού νέων προϊόντων λόγω της δημιουργίας νέων ιδιοτήτων υφής, γεύσεων και λειτουργικών ιδιοτήτων.
- Αποτελεί καθαρή τεχνολογία και είναι ένα ευέλικτο σύστημα με εύκολη λειτουργία για μεγάλο αριθμό προϊόντων.
- Η διάρκεια της διεργασίας δεν αποτελεί συνάρτηση του μεγέθους και του σχήματος του προϊόντος.
- Μειωμένη απαίτηση για χημικά πρόσθετα.
- Είναι κατάλληλη για προϊόντα με υψηλό περιεχόμενο σε νερό και μπορεί να τροποποιηθεί κατάλληλα τόσο για διεργασίες διαλείπουσας όσο και για ημι-συνεχούς λειτουργίας.
- Είναι καθαρή, περιβαλλοντικά φιλική τεχνολογία (Kadam et al. 2012, Rastogi 2013, Naik et al. 2013).

Ενώ τα κυριότερα **μειονεκτήματα** της ΥΠ είναι:

- Εμφανίζει ακόμη ιδιαίτερα υψηλό κόστος εγκατάστασης για βιομηχανική χρήση.
- Παρουσιάζει σημαντικές οικονομικές απώλειες, δεδομένου ότι θα πρέπει να υπάρχει εφαρμογή ενός ολοκληρωμένου συστήματος διασφάλισης ποιότητας, ώστε να εξασφαλίζεται η μείωση ή και εξάλειψη των μικροοργανισμών κατά την επεξεργασία.
- Το προς επεξεργασία τρόφιμο πρέπει να περιέχει υψηλά ποσοστά υγρασίας, αφού όλο το φαινόμενο βασίζεται στην συμπίεση.
- Τρόφιμα που εμπεριέχουν υψηλά ποσοστά αέρα δεν μπορούν να επεξεργαστούν με ΥΠ καθώς είναι ευαίσθητα στην εφαρμογή πίεσης.
- Κάποια ένζυμα παρουσιάζουν αυξημένη αντοχή στην πίεση, κάποια σπόρια δεν αδρανοποιούνται (Kadam et al. 2012, Naik et al 2013, Chawla et al 2011).

5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γιαούρτι αποτελεί βασικό συστατικό μιας ισορροπημένης διατροφής. Παράλληλα αποτελείται από πολλά συστατικά, το καθένα από τα οποία επηρεάζει τη δομή του τελικού προϊόντος, ενώ χαρακτηρίζεται κυρίως από το είδος του γάλακτος που χρησιμοποιείται σαν πρώτη ύλη και από την διεργασία που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του. Από τα βασικότερα συστατικά του γιαουρτιού είναι οι πρωτεΐνες, οι οποίες προσδίδουν πολλές βιο-λειτουργικές ιδιότητες και επηρεάζουν πολλά χαρακτηριστικά του τελικού όξινου πηγματος. Η τροποποίηση της διασύνδεσης των πρωτεϊνών στο τελικό προϊόν μπορεί να αποτελέσει εργαλείο για την παραγωγή προϊόντων με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά και αυξημένες βιο-λειτουργικές ιδιότητες. Οι δύο βασικότερες τεχνολογίες τροποποίησης των πρωτεϊνών και κατά συνέπεια και των πρωτεϊνικών δικτύων είναι η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση (ΥΠ) και η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος με τρανσγλουταμινάση (TGase).

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε η αξιοποίηση της τεχνολογίας της ΥΠ και της ενζυμικής τροποποίησης των πρωτεϊνών στην παραγωγική διαδικασία γιαουρτιού τύπου σετ, εφαρμοζόμενες μεμονωμένα αλλά και σε συνδυασμό, με την τεχνολογία της ενζυμικής τροποποίησης να έπεται αυτή της ΥΠ. Η εφαρμογή των παραπάνω διεργασιών πραγματοποιήθηκε σε δείγματα γάλακτος διαφορετικής προέλευσης, και σε γάλατα με ενισχυμένο πρωτεϊνικό περιεχόμενο, για να μελετηθούν:

- η επίδραση των τεχνολογιών αυτών στα λειτουργικά χαρακτηριστικά των γαλάτων αλλά και στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων από αυτά όξινων πηγμάτων,
- η αντικατάσταση της συμβατικής θερμικής επεξεργασίας με αυτή της ΥΠ
- η αντικατάσταση των σταθεροποιητών μέσω της ενζυμικής επεξεργασίας της TGase.

Στους Πίνακες 5.1 και 5.2 παρουσιάζονται οι παράγοντες που αποτελούν τις σχεδιαστικές παραμέτρους της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας.

Πίνακας 5. 1 Πειραματικός σχεδιασμός για το αγελαδινό γάλα

ΑΓΕΛΑΔΙΝΟ ΓΑΛΑ				
ΛΙΠΑΡΑ	ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ	ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΗΣ TGASE	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
0% ή 2%	0%	Θερμική	-	B0_CNT / B2_CNT
			2,0 Units/g πρωτεΐνης	B0_TG / B2_TG
		Υπερυψηλή Πίεση	-	B0_HP / B2_HP
			2,0 Units/g πρωτεΐνης	B0_HPTG / B2_HPTG
0% ή 2%	1,62%	Θερμική	-	B0WP_CNT / B2WP ⁸ _CNT
			2,0 Units/g πρωτεΐνης	B0WP_TG / B2WP_TG
		Υπερυψηλή Πίεση	-	B0WP_HP / B2WP_HP
			2,0 Units/g πρωτεΐνης	B0WP_HPTG / B2WP_HPTG

Πίνακας 5. 2 Πειραματικός σχεδιασμός για το πρόβειο γάλα

ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ			
ΛΙΠΑΡΑ	ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΗΣ TGASE	ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
0%	Θερμική	-	Ov0_CNT
		2,0 Units/g πρωτεΐνης	Ov0_TG
0%	Υπερυψηλή Πίεση	-	Ov0_HP
		2,0 Units/g πρωτεΐνης	Ov0_HPTG
2%	Θερμική	-	Ov2_CNT
		2,0 Units/g πρωτεΐνης	Ov2_TG
2%	Υπερυψηλή Πίεση	-	Ov2_HP
		2,0 Units/g πρωτεΐνης	Ov2_HPTG
5.35%	Θερμική	-	OvFF

5.2 ΥΛΙΚΑ

Για την παραγωγή γιαουρτιού τύπου σετ χρησιμοποιήθηκαν δείγματα γάλακτος αγελαδινής και πρόβειας προέλευσης που προμηθεύτηκαν από την γαλακτοβιομηχανία ΔΕΛΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ Α.Ε. στον Άγιο Στέφανο, Αττικής. Στον **Πίνακα 5.3** παρουσιάζονται αναλυτικά οι μέσες συστάσεις των γαλάτων.

⁸ WP: Whey Protein=Πρωτεΐνη Ορού

Πίνακας 5. 3 Μέσες συστάσεις στα διαφορά είδη γάλακτος

ΕΙΔΟΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	ΑΡΧΙΚΗ ΤΙΜΗ pH
ΑΓΕΛΑΔΙΝΟ 0% (B0)	0,10 ± 0,04	3,13 ± 0,04	6,77 ± 0,05
ΑΓΕΛΑΔΙΝΟ 0%-1,62%*(B0WP)	0,10 ± 0,00	4,28 ± 0,11	6,60 ± 0,01
ΑΓΕΛΑΔΙΝΟ 2% (B2)	1,90 ± 0,14	3,10 ± 0,00	6,79 ± 0,04
ΑΓΕΛΑΔΙΝΟ 2%-1,62%*(B2WP)	2,10 ± 0,14	4,27 ± 0,11	6,61 ± 0,01
ΠΡΟΒΕΙΟ 0% (OV0)	0,10 ± 0,00	5,41 ± 0,03	6,67 ± 0,05
ΠΡΟΒΕΙΟ 2% (OV2)	2,27 ± 0,40	5,53 ± 0,18	6,64 ± 0,08
ΠΡΟΒΕΙΟ 5,35%	5,35 ± 0,00	4,16 ± 0,00	6,65 ± 0,02

*Το 1,62% συμβολίζει το ποσοστό της προσθήκης της πρωτεΐνης ορού στο δείγμα

Επίσης, χρησιμοποιήθηκε και ενζυμικό παρασκεύασμα τρανσγλουταμινάσης (TGase) με ονομαστική δραστικότητα 100 Units/g πρωτεΐνης (Transglutaminase Preparation: ACTIVA YG, Ajinomoto Foods Europe SAS, Germany).

5.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

5.3.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν γάλατα διαφορετικής προέλευσης, λιποπεριεκτικότητας και με διαφορετικά επίπεδα πρωτεϊνικού περιεχομένου, όπως φαίνεται στον πίνακα 5.1. Η μέση περιεκτικότητα σε λιπαρά για το αγελαδινό γάλα ήταν >0,2% ή 2,0%, ενώ παρασκευάστηκαν και μίγματα αγελαδινού γάλακτος με αντίστοιχη λιποπεριεκτικότητα στα οποία προστέθηκε σκόνη πρωτεϊνών από γίδινο γάλα, με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ορού 80%, από την εταιρεία ΗΠΕΙΡΩΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ Α.Ε. (Ιωάννινα, Ελλάδα), σε ποσοστό 1,62% κ.β. Σ' αυτή την περίπτωση αυξήθηκε το πρωτεϊνικό περιεχόμενο από ~3,10% σε ~4,27%. Όσον αφορά στο πρόβειο γάλα, χρησιμοποιήθηκαν γάλατα με περιεκτικότητα σε λιπαρά >0,2%, 2,0% και 5,35%, με το τελευταίο να αποτελεί το δείγμα αναφοράς, και με αντίστοιχο πρωτεϊνικό περιεχόμενο 5,41%, 5,53% και 4,16%.

Η διαδικασίες της ομογενοποίησης και της θερμικής επεξεργασίας πραγματοποιήθηκαν στο Πιλοτικό Εργαστήριο Έρευνας & Ανάπτυξης του Εργοστασίου Παραγωγής Γιαουρτιού της γαλακτοβιομηχανίας ΔΕΛΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ Α.Ε. στον Άγιο Στέφανο Αττικής, και μεταφέρθηκαν υπό

ψύξη στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Ε.Μ.Π. Το γάλα ομογενοποιήθηκε σε βιομηχανικό ομογενοποιητή στα 150 bar. Κατόπιν, το γάλα είτε υποβλήθηκε σε θερμική επεξεργασία στους 95°C για 5 min από το Πιλοτικό Εργαστήριο της ΔΕΛΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ Α.Ε., είτε υποβλήθηκε σε επεξεργασία με ΥΠ (600MPa/55°C για 10 min, Tsendou et al. 2013a,b) σε εργαστηριακή μονάδα που βρίσκεται στο Ινστιτούτο Αμπέλου του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε) στη Λυκόβρυση Αττικής.

5.3.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΥΠΕΡΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ

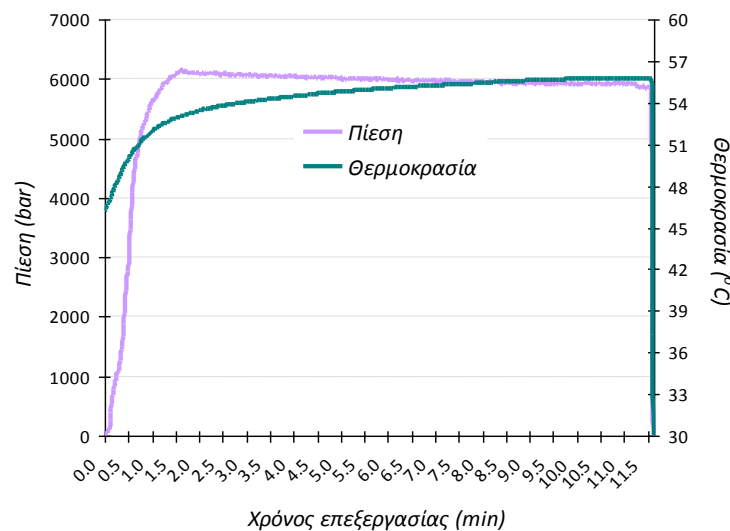
Η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ πραγματοποιήθηκε σε σύστημα ΥΠ εργαστηριακής κλίμακας με μέγιστη πίεση λειτουργίας τα 1000 MPa (Food Pressure Unit FPU 1.01, Resato International BV, Roden, Netherlands). Το σύστημα αυτό αποτελείται από μια μονάδα ΥΠ με ενισχυτή πίεσης, ένα δοχείο ΥΠ όγκου 1,5 L και ένα σύστημα πολλαπλών δοχείων που αποτελείται από συνολικά 6 δοχεία όγκου 42 mL το καθένα (**Εικόνα 5.1**). Όλα τα δοχεία ΥΠ περιβάλλονται από νερό το οποίο είναι συνδεδεμένο με σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας, ενώ η μετάδοση της πίεσης πραγματοποιείται με τη χρήση πολυγλυκόλης, τάξης ιζώδους κατά ISO 15 (Resato International BV, Netherlands).



Εικόνα 5. 1 Εργαστηριακή μονάδα υπερυψηλής πίεσης (Αριστερά: Κεντρική μονάδα Υπ, Δεξιά: Δοχείο ΥΠ 1,5 L και συστοιχία 6 δοχείων ΥΠ)

Για την επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ, τοποθετήθηκαν 750 g δείγματος σε πολυστρωματική (PP, αλουμινόφυλλο, PE) συσκευασία, η οποία, στη συνέχεια, επεξεργάστηκε στο

δοχείο του 1,5 L. Για να ξεκινήσει η επεξεργασία ρυθμίζεται αρχικά η επιθυμητή τιμή της πίεσης, η οποία αυξάνεται με ρυθμό 20 MPa/s. Όταν το δοχείο αποκτήσει την επιθυμητή τιμή πίεσης, απομονώνεται, και το σημείο αυτό ορίζεται ως ο χρόνος μηδέν του κύκλου που διαρκεί 10 min. Αξίζει να σημειωθεί πως κατά την αύξηση της πίεσης πριν από το χρόνο μηδέν παρατηρείται αύξηση της θερμοκρασίας περίπου 3°C για κάθε 100 MPa, λόγω αδιαβατικής θέρμανσης, κάτι που συνυπολογίζεται για την επίτευξη της επιθυμητής θερμοκρασίας της διεργασίας. Για το λόγο αυτό, η θερμοκρασία του μέσου θέρμανσης του δοχείου ρυθμιζόταν σε χαμηλότερη τιμή από την επιθυμητή θερμοκρασία της επεξεργασίας (μέση θερμοκρασία επεξεργασίας: 55±1°C). Μετά το πέρας των 10 min, η πίεση στο δοχείο εκτονώνεται ανοίγοντας την βαλβίδα πίεσης. Ο χρόνος απελευθέρωσης υπολογίζεται γύρω στα 3 s. Καθ' όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας των δειγμάτων με ΥΠ, τόσο η θερμοκρασία όσο και η πίεση παρακολουθούνται και καταγράφονται ανά 1 s, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 5.2**.



Εικόνα 5. 2 Διάγραμμα εξέλιξης της πίεσης και της θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια ενός κύκλου συμπίεσης 10 min σε συνθήκες επεξεργασίας 600 MPa και 55°C

5.3.3 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΡΑΝΣΓΛΟΥΤΑΜΙΝΑΣΗ

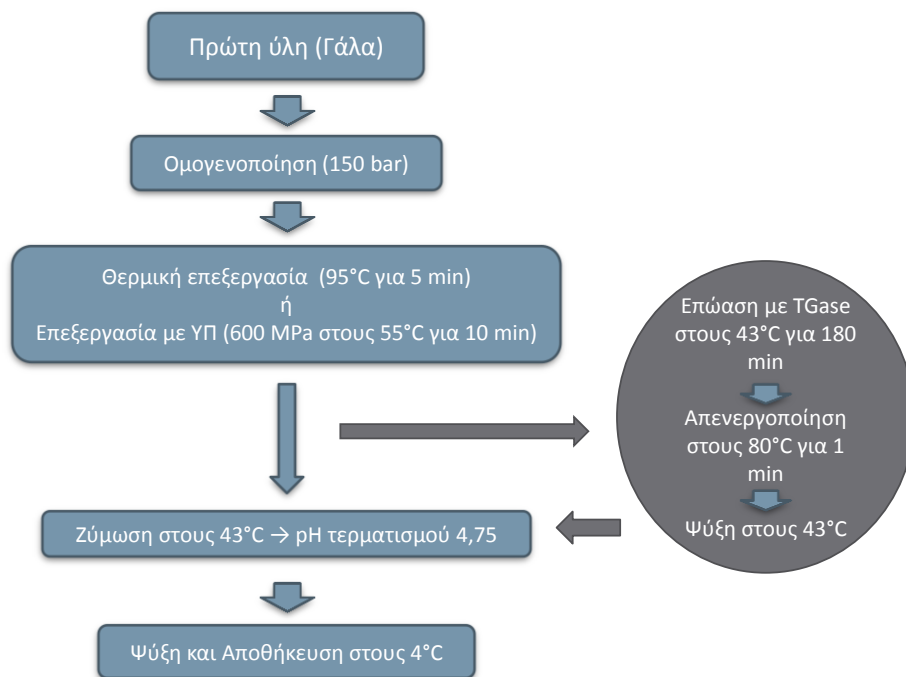
Τα θερμικά επεξεργασμένα και επεξεργασμένα με ΥΠ γάλατα θερμαίνονταν στους 42°C και εμβολιάζονταν με το ενζυμικό παρασκεύασμα της TGase σε συγκέντρωση 2,0 Units/g πρωτεΐνης. Η επώαση των εμβολιασμένων με TGase δειγμάτων λάμβανε χώρα σε αποστειρωμένα δοχεία των 2 L μέσα σε υδατόλουτρο ελεγχόμενης θερμοκρασίας (43,0±0,2°C, Memmert, Germany) για 3 h (Tsendou et al. 2013a,b). Μετά το πέρας του χρόνου ενζυμικής επεξεργασίας, τα επεξεργασμένα πλέον με TGase γάλατα θερμαίνονταν ταχέως με τη βοήθεια μικροκυμάτων στους 80°C όπου και παρέμεναν για 1 min προκειμένου να απενεργοποιηθεί το ένζυμο, και κατόπιν ψύχονταν στη

θερμοκρασία ζύμωσης. Τα γάλατα, τα οποία δεν εμβολιάζονταν με το ένζυμο αποτελούσαν τα δείγματα αναφοράς ως προς την ενζυμική επεξεργασία.

5.3.4 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ ΤΥΠΟΥ ΣΕΤ

Όταν τα γάλατα έφταναν στη θερμοκρασία ζύμωσης (42°C) εμβολιαζόταν με την εμπορική καλλιέργεια εκκίνησης Danisco YO-MIX FLEX (Danisco, Demnark), ενώ ο εμβολιασμός πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του προμηθευτή. Οι κωδικοποίηση που χρησιμοποιήθηκε για τα κύπελλα ήταν:

- Thermal Control (CNT) για το θερμικά επεξεργασμένο γάλα,
- Thermal TGase (TG), για το θερμικά επεξεργασμένο και επεξεργασμένο με TGase γάλα,
- High Pressure Control (HP), για το γάλα που είχε υποστεί επεξεργασία με ΥΠ, και
- High Pressure TGase (HPTG), για το γάλα που είχε υποστεί επεξεργασία με ΥΠ και TGase (Εικόνα 5.3).



Εικόνα 5. 3 Διάγραμμα ροής παραγωγής γιαουρτιού σε εργαστηριακή κλίμακα

Πριν τον εμβολιασμό παραλαμβάνονταν μικρή ποσότητα γάλακτος (από τα δείγματα αγελαδινού γάλακτος) για ηλεκτροφόρηση και χαρακτηρισμό του πρωτεϊνικού περιεχομένου. Μετά τον εμβολιασμό, το γάλα μοιράστηκε σε αποστειρωμένα πλαστικά κύπελλα των 200 g, τα οποία

σφραγίστηκαν με αλουμινόφυλλο, καθώς και σε αποστειρωμένα φιαλίδια των 60 mL. Τα κύπελλα τοποθετήθηκαν σε κλίβανο Sanyo (MIR 153) σταθερής θερμοκρασίας και ρυθμισμένο στους $42\pm 1,1^{\circ}\text{C}$, ενώ τα φιαλίδια σε υδατόλουτρο ρυθμισμένο κι αυτό στη θερμοκρασία ζύμωσης. Ο σκοπός για τη χρήση των φιαλιδίων ήταν η μέτρηση του pH ανά 10 min για τον σχεδιασμό της καμπύλης ζύμωσης. Η ζύμωση ολοκληρωνόταν όταν η τιμή του pH έφτανε την τιμή 4,75.

Μετά το πέρας της ζύμωσης, τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε κλίβανο σταθερής θερμοκρασίας $4,0\pm 0,6^{\circ}\text{C}$ μέχρι να αναλυθούν. Οι παράμετροι ποιότητας και οι βιο-λειτουργικές ιδιότητες που μελετήθηκαν, περιλάμβαναν μικροβιολογική ανάλυση, μετρήσεις οξύτητας, αποβαλλόμενου ορρού, ανάλυση υφής, ανάλυση χρώματος, ανάλυση μικροδομής σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και προσδιορισμός των ανοσο-ρυθμιστικών και αντι-υπερτασικών ιδιοτήτων.

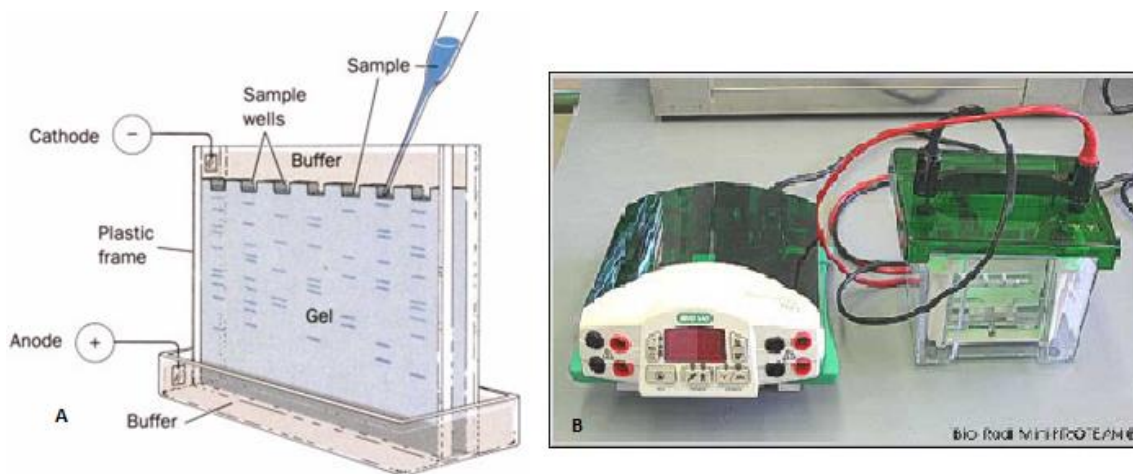
5.4 ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

5.4.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΣΕ ΠΗΚΤΗ ΠΟΛΥΑΚΡΙΛΑΜΙΔΙΟΥ (SDS-PAGE)

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν μια τυπική ηλεκτροφόρηση σε επίπεδη πηκτή πολυακρυλαμίδης σε διάλυμα δωδεκακυλοθειικού νατρίου (Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis, SDS-PAGE). Πριν την ηλεκτροφόρηση, τα δείγματα αποβουτυρώθηκαν σε φυγόκεντρο (Heraeus Megafuge 16R, Thermo Fischer Scientific, US) με ταχύτητα περιστροφής $2000 \times g$ για 20 min στους 4°C και το υγρό υπόλειμμα συλλέχθηκε για περαιτέρω ανάλυση. Τα αποβουτυρωμένα δείγματα διαλύθηκαν σε αναλογίες 2x και 5x με ρυθμιστικό διάλυμα δωδεκακυλοθειικού νατρίου (SDS, 2% SDS, $25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris pH = 6,8, γλυκερόλη, 2-μερκαπτεθανόλη, 0,1% μπλε βρωμοφαινόλης), που αποτελεί ένα ανιοντικό απορρυπαντικό το οποίο αποδιατάσσει και φορτίζει αρνητικά τις πρωτεΐνες. Η 2-μερκαπτεθανόλη ανάγει τους δισουλφιδικούς δεσμούς, οι οποίοι αναπτύσσονται ανάμεσα σε δύο ομάδες -SH κυστεϊνών της ίδιας ή δύο διαφορετικών πολυπεπτιδικών αλυσίδων και η αποδιάταξή τους ολοκληρώνεται με θέρμανση στους 100°C για 5-7 min. Μετά τη θέρμανση τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για να ομογενοποιηθούν και στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν στην πηκτή, στις θέσεις υποδοχής, για να ξεκινήσει η ηλεκτροφόρηση, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 5.4A**.

Ο διαχωρισμός των πρωτεϊνικών ζωνών διεξήχθη σε 12% προκατασκευασμένη πηκτή (Mini-PROTEAN TGX, BioRad Lab., US), χρησιμοποιώντας την διάταξη Mini-PROTEAN (Mini-PROTEAN TGX, BioRad Lab., US), η οποία απεικονίζεται στην **Εικόνα 5.4B**. Τα σύμπλοκα SDS-αποδιαταγμένης πρωτεΐνης ηλεκτροφορούνται με κατεύθυνση από την κάθοδο προς την άνοδο, με εφαρμογή ρεύματος ύψους 35mA. Μετά την ολοκλήρωση της ηλεκτροφορητικής διαδρομής, οι πρωτεΐνες στην πηκτή εμφανίστηκαν με χρώση $4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ κυανού Coomassie σε διάλυμα απιονισμένου νερού, μεθανόλης και ακετικού οξέος με αναλογία 5:4:1. Τέλος, η σχετική ένταση των

χρωματισμένων ζωνών προσδιορίστηκε σκανάρωντας τις πηκτές (HP Scanjet 4670, China) (Tsevdou et al. 2013).



Εικόνα 5. 4 Α) Πηκτή επίπεδης ηλεκτροφόρησης, όπου διακρίνεται ο τρόπος «φόρτωσης» των δειγμάτων στις θέσεις υποδοχής και Β) Mini-PROTEAN (Mini-PROTEAN TGX, BioRad Lab., US)

5.4.2 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗΣ

Η κινητική της ζύμωσης προσδιορίστηκε με τη χρήση συσκευής μέτρησης pH (AMEL 338, AMEL Instruments, Italy) με ακρίβεια 0,001, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 5.5**. Το pH των δειγμάτων του γιαουρτιού κατά τη διαδικασία της ζύμωσης μετρούταν συνεχώς χρησιμοποιώντας ένα γυάλινο ηλεκτρόδιο των 12 mm (HI1131B, Hanna Instruments, Inc., USA) και η δειγματοληψία γινόταν αρχικά κάθε 20 λεπτά και μετά από τα πρώτα 120 min η δειγματοληψία γινόταν κάθε 10 min, μέχρι τη λήξη της ζύμωσης (pH 4,75). Οι τιμές του pH συναρτήσεσι του χρόνου προσαρμόστηκαν στην τροποποιημένη εξίσωση του Gompertz (Εξ. 1), με σκοπό τον υπολογισμό των παραγόντων που περιγράφουν την κινητική της ζύμωσης (de Brabandere και de Baerdemaeker 1999):

$$pH = pH_0 - (pH_\infty - pH_0) \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu e}{(pH_\infty - pH_0)} \right] \cdot (\lambda - t) + 1 \right\} \quad (\text{Εξ. 1})$$

Όπου, pH_∞ και pH_0 , η αρχική και η τελική τιμή pH αντίστοιχα, μ , ο μέγιστος ρυθμός μείωσης του pH (pH drop) που εκφράζεται σε pH/min, και λ , ο χρόνος διάρκειας της 1^{ης} φάσης της ζύμωσης (lag phase) που εκφράζεται σε min.



Εικόνα 5. 5 Συσκευή μέτρησης pH AMEL 338 (AMEL Instruments, Italy)

5.4.3 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για την μελέτη των μικροοργανισμών που περιέχονται στα δείγματα γιαουρτιού παραλείφθηκαν 10g δείγματος, με αποστειρωμένο κουτάλι, υπό ασηπτικές συνθήκες, και μεταφέρθηκαν σε αποστειρωμένη σακούλα όπου προστέθηκαν 90 g Ringer (1.15525 Merck). Το δείγμα ομογενοποιήθηκε σε ομογενοποιητή σακουλών (BagMixer Interscience, France). Στη συνέχεια, έγινε η προετοιμασία των διαδοχικών αραιώσεων και πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια των δειγμάτων σε κατάλληλα υποστρώματα και συνθήκες:

- Για την καλλιέργεια εκκίνησης χρησιμοποιήθηκαν τα θρεπτικά υποστρώματα M17 agar (1.15108 Merck, Germany) , το οποίο απαιτεί αερόβια επώαση στους 37°C για 24 h, για την απαρίθμηση του *Streptococcus thermophilus*, και το υπόστρωμα MRS agar (1.10660 Merck, Germany) με τροποποιημένη τιμή pH στο 4,58, που απαιτεί αναερόβια επώαση στους 45°C για 72 h για την απαρίθμηση του *Lactobacillus bulgaricus*. Για να είναι επιτυχής η αναερόβια επώαση, τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε ειδικά δοχεία Anaerocult Jar (1.16387, Merck, Germany) με χρήση καταλύτη (Anaerocult A Catalyst, 1.13829, Merck, Germany), από τα οποία αποβάλλεται το οξυγόνο.
- Για την ολική μικροβιακή χλωρίδα χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (1.05463, Merck, Germany), με αερόβια επώαση στους 25°C για 72 h.
- Για τις ζύμες και τους μύκητες έγινε χρήση του θρεπτικού υποστρώματος RBC agar (1.00467, Merck, Germany) με επώαση στους 25°C για 72 h.
- Για τα εντεροβακτήρια χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υπόστρωμα VRBD (1.10275, Merck, Germany), το οποίο απαιτεί αναερόβια επώαση στους 35°C για 48 h.

Για την καταμέτρηση των μικροοργανισμών χρησιμοποιήθηκε το όργανο Astor 20 Colony Counter (Astori, Italy).

5.4.4 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

5.4.4.1 ΤΙΤΛΟΔΟΤΟΥΜΕΝΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΚΑΙ ΡΗ

Για την μέτρηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας, αραιώθηκε το κάθε δείγμα με απαερωμένο νερό σε αναλογία 1:1, και σ' αυτό προστέθηκε δείκτης φαινολοφθαλεΐνης. Στη συνέχεια τα δείγματα τιτλοδοτήθηκαν με 0,1N NaOH. Η οξύτητα εκφράστηκε σε % γαλακτικό οξύ σύμφωνα με τη σχέση (IDF 1991):

$$\% \text{ γαλακτικό οξύ} = \frac{mL \text{ NaOH} \cdot 0,09 \cdot 0,1}{20} \cdot 100 \quad (\text{Εξ. 2})$$

Επιπρόσθετα, το pH ή αλλιώς η μετρούμενη οξύτητα προσδιορίστηκε με τη συσκευή μέτρησης pH AMEL 338 (AMEL Instruments, Italy).

5.4.4.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

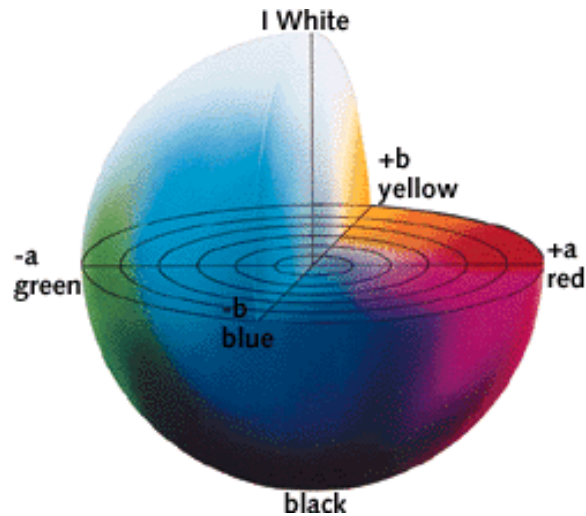
Τα δείγματα γιαουρτιού υποβλήθηκαν σε εξέταση του χρώματος τους με τη χρήση του χρωματόμετρου Minolta CR200 CIE lab (Minolta Co, Chuo-Ku, Japan). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων εκφράστηκαν στην κλίμακα CIELAB (L, a, b), η οποία προτάθηκε από τη Διεθνή Επιτροπή Φωτισμού (CIE, International Commission on Illumination) το 1971. Η κλίμακα αυτή βασίζεται στη Θεωρεία του Αντίθετου Χρώματος και λαμβάνει υπόψη της, πως το ανθρώπινο μάτι αντιλαμβάνεται τα χρώματα ως τα ακόλουθα ζεύγη αντιθέτων:

- Η κλίμακα L εκφράζει την φωτεινότητα του χρώματος. Μια χαμηλή τιμή (0-50) υποδηλώνει ότι το χρώμα του δείγματος τείνει προς το μαύρο, ενώ μια πιο υψηλή τιμή (51-100) υποδηλώνει ότι τείνει προς το λευκό.
- Η κλίμακα του a υποδεικνύει το κόκκινο χρώμα (redness) όταν έχει θετικό πρόσημο, ενώ όταν έχει αρνητικό πρόσημο το πράσινο χρώμα (greenness).
- Η κλίμακα του b υποδεικνύει το κίτρινο χρώμα (yellowness) με θετικό πρόσημο, ενώ με αρνητικό το μπλε (blueness).

Για την πλήρη περιγραφή του χρώματος ενός αντικειμένου είναι απαραίτητες και οι τρεις τιμές. Για να κατανοήσει κανείς την κλίμακα CIELAB χρησιμοποιείται τρισδιάστατη απεικόνιση των τριών παραμέτρων, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 5.6**.

Πέρα από τις τιμές L, a και b που υποδεικνύουν την ένταση της εκάστοτε απόχρωσης, δίνεται και η δυνατότητα υπολογισμού του συνολικού χρώματος, E, με βάση την Εξ. 3:

$$E = \sqrt{L^2 + a^2 + b^2} \quad (\text{Εξ. 3})$$



Εικόνα 5. 6 Τρισδιάστατη απεικόνιση της κλίμακας CIELAB

5.4.4.3 ΣΥΝΑΙΡΕΣΗ

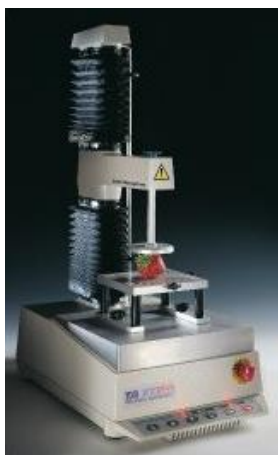
Η σταθερότητα του μίγματος εκτιμήθηκε μετρώντας την συναίρεση, δηλαδή την αποβολή του ορού από το δείγμα σ' ένα καθορισμένο χρονικό διάστημα υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Συγκεκριμένα, 100 g δείγματος μεταφέρθηκαν από κύπελλο των 200 g σε χωνί με χαρτί διήθησης το οποίο είχε τοποθετηθεί σε κωνική φιάλη. Τα δείγματα αφέθηκαν σε κλίβανο των 4°C για 3 h. Ο αποβαλλόμενος ορός ζυγίστηκε και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε % ποσοστό αποβαλλόμενου ορού.

5.4.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΥΦΗΣ

Τα παραγόμενα όξινα πηγμάτα υποβλήθηκαν σε ανάλυση υφής με χρήση του αναλυτή υφής TA-XT2i Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK) (Εικόνα 5.7).

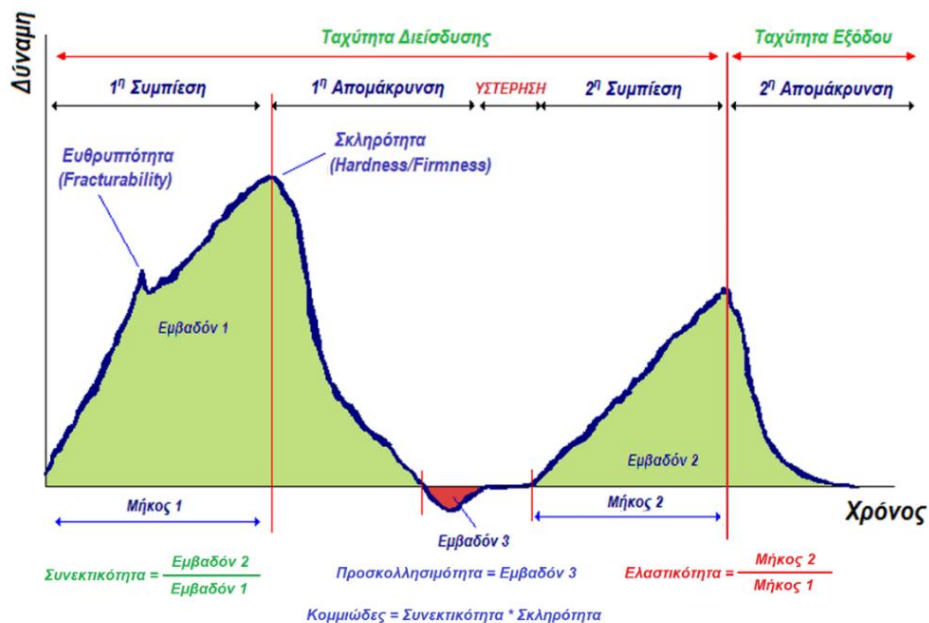
Αρχικά, τα προϊόντα γιαουρτιού μεταφερόταν από την θερμοκρασία αποθήκευσής τους σε κλίβανο θερμοκρασίας 10°C μέχρι να ισορροπήσουν και κατόπιν να μετρηθούν. Για την ανάλυσή τους εφαρμόστηκε πρόγραμμα διπλής διείσδυσης με χρήση κυλινδρικού εμβόλου διαμέτρου 25,4mm και μήκους 35mm (Brookfield Viscometers Ltd., Harlow Essex, UK). Οι παράμετροι του προγράμματος συμπίεσης ήταν:

- Ταχύτητα στελέχους πριν την διείσδυση: 10 mm/s
- Ταχύτητα κατά τη διείσδυση :4mm/s
- Βάθος διείσδυσης: 13 mm
- Θερμοκρασία: 10°C



Εικόνα 5. 7 Αναλυτής υφής TA-XT2i Plus Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd., UK)

Τα χαρακτηριστικά υφής του προϊόντος προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια κατάλληλου λογισμικού (Texture Exponent 32, Stable Micro Systems Ltd., UK) και ήταν η σφικτότητα, η συνεκτικότητα, η προσκολλησιμότητα, ο δείκτης ελαστικότητας και το κομμώδες. Στην **Εικόνα 5.8** παρουσιάζεται μια τυπική καμπύλη διπλής διεύθυνσης, στην φαίνεται πως υπολογίζονται κάποια από τα χαρακτηριστικά υφής.



Εικόνα 5. 8 Διάγραμμα μεθόδου διπλής διεύθυνσης

5.4.6 ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Για τον υπολογισμό των βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων στα δείγματα του γιαουρτιού, ήταν πρώτα απαραίτητη η παρασκευή του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος των πεπτιδίων του κάθε δείγματος, στη συνέχεια ο υπολογισμός του πρωτεϊνικού περιεχομένου, και τέλος ο υπολογισμός των αντι-υπερτασικών και ανοσορυθμιστικών ιδιοτήτων.

5.4.6.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ

Η παρασκευή του υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος των πεπτιδίων (Water Soluble Extract, WSE) έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο των Kuchroo & Fox (1982). Αρχικά, αναμίχθηκε γιαούρτι με απιονισμένο νερό σε αναλογία 1:2 και το μίγμα ομογενοποιήθηκε (BagMixer Interscience, France). Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 45°C, όπου παρέμειναν για διάστημα 1 h. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στη φυγόκεντρο Heraeus Megafuge 16R (Thermo Fischer Scientific, USA) στα 3000 x g, στους 20°C για 30 min. Η υδατική φάση διηθήθηκε υπό κενό για να διαχωριστεί πλήρως από την στερεή φάση και τελικά η ποσότητα συλλέχθηκε και αποθηκεύτηκε υπό συνθήκες κατάψυξης. Εκχυλίσματα λήφθηκαν από όλα τα δείγματα κατόπιν 3 και 40 ημερών από την ημέρα παραγωγής τους.

5.4.6.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ

Ο υπολογισμός του πρωτεϊνικού περιεχομένου των WSE πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη επίσημη μέθοδο Kjeldahl (AOAC 1990), η οποία βασίζεται στον υπολογισμό του αζώτου που βρίσκεται κατά κύριο λόγο στις πρωτεΐνες και στα προϊόντα αποικοδόμησης και μεταβολισμού των πρωτεϊνών. Η μέθοδος Kjeldahl αποτελεί μια ειδική μέθοδος καύσης κατά την οποία προσδιορίζεται το οργανικό άζωτο σε μορφή αμμωνίας.

5.4.6.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ACE- ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Ο προσδιορισμός της ACE- ανασταλτικής δραστηριότητας πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Nakamura et al. (1995). Το μέγεθος της δραστηριότητας υπολογίστηκε με βάση τη σχέση (Εξ. 4):

$$ACE - \text{ανασταλτική δραστηριότητα (\%)} = \left[1 - \frac{C - D}{A - B} \right] \times 100 \quad (\text{Εξ. 4})$$

Όπου A είναι η απορρόφηση του διαλύματος ACE στο ρυθμιστικό διάλυμα, B η απορρόφηση του ρυθμιστικού διαλύματος, C η απορρόφηση της δραστηριότητας του διαλύματος ACE στο WSE και D η απορρόφηση του WSE στο ρυθμιστικό διάλυμα (Donkor et al. 2004).

Κάθε μίγμα είχε τελικό όγκο 250μL και αποτελούνταν από τα ακόλουθα συστατικά στην ενδεικτική τελική συγκέντρωση:

- 180 μL διαλύματος ιππουρύλ-L-ιστιδύλ-L-λευκίνης (*hippuryl-L-histidyl-L-leucine*)(5 mM) σε βορικό νάτριο (100 mM) και pH 8,3 το οποίο ρυθμίστηκε με 300 nM NaCl
- 50 μL WSE ή απιονισμένο νερό
- 20 μL υδατικό διάλυμα Angiotensin Converting Enzyme (ACE, Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, USA) συγκέντρωσης 2 mU, που προέρχεται από πνεύμονα κουνελιού

Το μίγμα επώαστηκε για 90 min στους 37°C και η αντίδραση διακόπηκε με χρήση 250 μL HCl 1N. Στην συνέχεια, προστέθηκε στο μίγμα 1,7 mL οξικού αιθυλεστέρα το οποίο δεσμεύει το παραγόμενο ιππουρικό οξύ από την αντίδραση. Για τον διαχωρισμό της οργανικής φάσης τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 1000 rpm για 10 min στους 15°C και ακολούθησε εξάτμιση στους 100°C για 15 min. Μετά την εξάτμιση, προστέθηκε 1 mL απιονισμένο νερού στο υπόλειμμα και μετρήθηκε η δραστηριότητα των δειγμάτων φασματοφωτομετρικά στα 228 nm. Πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις για το κάθε δείγμα.

5.4.6.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΟΣΟ-ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ

Οι ανοσορυθμιστικές ιδιότητες των πεπτιδίων των υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων προσδιορίστηκαν βάσει της δυνατότητας τους να διαμορφώνουν την έκφραση μίας σειράς γονιδίων που σχετίζονται με το επίπεδο ετοιμότητας και απόκρισης του ανοσιακού συστήματος από πρόβεια μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα. Τα ανοσοϊκανά αυτά κύτταρα απομονώθηκαν με χρήση της μεθόδου που έχει περιγραφεί από τους Politis et al. (2012). Η καθαρότητα των κυττάρων ήταν κατά μέσο όρο 92% (88-97%), ενώ η βιωσιμότητα αυτών εκτιμήθηκε ότι είναι >95% του συνόλου, με βάση την μέθοδο αποκλεισμού χρώσης με trypan blue. Τα αντιδραστήρια καθώς και το απιονισμένο νερό που χρησιμοποιήθηκε για την διεργασία δεν περιείχαν ενδοτοξίνη για να αποφευχθεί η ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων. Μετά την απομόνωση, τα μονοκύτταρα καλλιεργήθηκαν σε μέσο κυτταρικής καλλιέργειας (RPMI 1640) παρουσία ή απουσία υδατοδιαλυτού εκχυλίσματος. Το μέσο κυτταρικής καλλιέργειας περιείχε 2 mM L-γλουταμίνη, 1,5 g/L HCO₃, 10mM HEPES συμπληρωμένο με 5,5 mM γλυκόζη, 1 mM πυροσταφυλικό νάτριο, 50 mg/mL πενικιλίνη και στρεπτομυκίνη και 10% FBS. Μετά το τέλος της επώασης, η οποία διήρκεσε 3 h, το μέσο καλλιέργειας απομακρύνθηκε και τα κύτταρα εκπλύθηκαν 3 φορές με PBS. Στη συνέχεια, προστέθηκε οξική μυριστική φορβόλη (PMA, 81 nM) για την ενεργοποίηση των κυττάρων. Μετά από επώαση 30 min, τα κύτταρα εκπλύθηκαν και πάλι 3 φορές με PBS και ακολούθησε η επεξεργασία για την απομόνωση του RNA από τα κύτταρα με τη μέθοδο ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο (Real Time PCR, RT-PCR).

Το ολικό RNA εκχυλίστηκε από 5×10^6 μονοκύτταρα με τη χρήση του αντιδραστηρίου TriReagent (Sigma-Aldrich Co., USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η ποιότητα και η ποσότητα του RNA που εκχυλίστηκε επιβεβαιώθηκε με φασματοφωτομετρία καθώς και με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης. Τα σχετικά επίπεδα του mRNA για τα γονίδια στόχους ποσοτικοποιήθηκαν με τη χρήση ποσοτικής RT-PCR και της μεθόδου SYBR Green. Η ποσότητα του mRNA για κάθε γονίδιο ομαλοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ως ενδογενή γονίδια την β-ακτίνη και τη GAPDH. Για κάθε γονίδιο που χρησιμοποιήθηκε κατασκευάστηκε ένα ζεύγος εκκινητών χρησιμοποιώντας το λογισμικό PERLprimer (Marshall 2004). Ίσες ποσότητες ολικού RNA μεταγράφηκαν αντίστροφα με τη βοήθεια του PrimeScript 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Takara) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή χρησιμοποιώντας ένα μίγμα τυχαίων εξαμερών και ολιγο-dT εκκινητών. Η RT-PCR πραγματοποιήθηκε στο σύστημα 7500 Real Time (Applied Biosystems) με τη χρήση του SYBRSELECT (Thermo Fisher Scientific) σύμφωνα και πάλι με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Κάθε αντίδραση (10 μ L) περιείχε 12,5 ng ισοδύναμου RNA, καθώς και 150-300 nM από πρόσθιους και οπίσθιους εκκινητές για το κάθε γονίδιο. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε στους 95°C για 30 s που ακολουθείται από 40 κύκλους των 15 s στους 95°C και 1 min στους 60°C. Αυτό ακολουθήθηκε από μια ανάλυση καμπύλης τήξης για να προσδιοριστεί η εξειδίκευση της αντίδρασης. Κάθε δείγμα μετρήθηκε εις διπλούν. Για την ομαλοποίηση βάσει των ενδογενών γονιδίων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ομαλοποίησης Pfaffl (2001) όπως αυτή τροποποιήθηκε από τους Hellemans et al. (2007).

5.4.7 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΙΚΡΟΔΟΜΗΣ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Η μικροδομή των τελικών όξινων πηγμάτων αγελαδινού γάλακτος μελετήθηκε μέσω της χρήσης ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης FEI Quanta 200 (FEI Company, Netherlands). Για την προετοιμασία των δειγμάτων απαιτείται πρώτα ξήρανση υπό κατάψυξη, η οποία πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια μονάδα ξηραντήρα υπό κατάψυξη εργαστηριακής κλίμακας (Alpha 1-4LDplus, CHRIST, Germany). Έπειτα τα δείγματα επικαλύφθηκαν με χρυσό και παλλάδιο υπό κενό σε μια συσκευή καθοδικής διασκόρπισης (Polaron 5100). Τέλος, τα δείγματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας ένα ανιχνευτή μεγάλου εύρους (LFD) που λειτουργούσε στα 25 kV και λήφθηκαν μεγεθύνσεις x 2.000 και x 10.000.

5.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα δεδομένα που προέκυψαν από τις μετρήσεις των ποιοτικών και βιο-λειτουργικών παραμέτρων των παραγόμενων όξινων πηγμάτων προσδιορίστηκαν μετά από δύο επαναλήψεις από τρία ανεξάρτητα πειράματα και οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη βοήθεια του λογισμικού Statistica 7 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5.5.1 ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Προκειμένου να μελετηθεί η σημαντικότητα της επίδρασης των σχεδιαστικών παραμέτρων στα επιμέρους ποιοτικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων, τα πειραματικά δεδομένα υποβλήθηκαν σε γραμμική παραμετρική ανάλυση διακύμανσης (Factorial ANOVA), με παράλληλη σύγκριση των μέσων όρων μέσω της δοκιμής Duncan (Duncan's means post hoc comparison test), προκειμένου να διαπιστωθούν οι στατιστικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων ανά είδος σχεδιαστικής παραμέτρου και για τα επιμέρους πειράματα που διεξήχθησαν. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως στάθμη σημαντικότητας την τιμή $\alpha = 0,95$ (p -value = 0,05).

Ειδικότερα, οι σχεδιαστικές παράμετροι που επιλέχθηκαν για τα μελετώμενα προϊόντα ήταν οι ακόλουθες:

Σχεδιαστική Παράμετρος: Είδος Γάλακτος

1 = Αγελαδινό, 2 = Πρόβειο

Σχεδιαστική Παράμετρος: Επεξεργασία του Γάλακτος

1 = Θερμική Επεξεργασία, 2 = Επεξεργασία με ΥΠ

Σχεδιαστική Παράμετρος: Συγκέντρωση TGase

1 = 0,0 Units/ g πρωτεΐνης, 2 = 2,0 Units/ g πρωτεΐνης

Σχεδιαστική Παράμετρος: Περιεκτικότητα σε Λιπαρά

1 = 0%, 2 = 2%

Σχεδιαστική Παράμετρος: Προσθήκη Πρωτεϊνικού Περιεχομένου

1 = 0%, 2 = 1,62%

Σχεδιαστική Παράμετρος: Χρόνος Αποθήκευσης

1 = 3 ημέρες, 2 = 40 ημέρες

5.5.2 ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ (ΑΚΣ)

Για να διερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση των εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας του γάλακτος στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά των τελικών όξινων πηγμάτων, τα πειραματικά δεδομένα υποβλήθηκαν σε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ). Τα πειραματικά δεδομένα υποβλήθηκαν σε κανονικοποίηση βάσει του κριτηρίου $1/SD$.

Ο μέγιστος αριθμός κύριων συνιστωσών που απαιτείται για την επαρκή επεξήγηση της ολικής διακύμανσης καθορίστηκε βάσει του διαγράμματος ιδιοτιμών, ενώ οι συσχετίσεις των

ποιοτικών παραμέτρων με τους εκάστοτε κύριους άξονες καθορίστηκε με βάση την τιμή $|\alpha| > 0,7$, όπου α είναι η επεξηγούμενη ολική διακύμανση ανά κύριο άξονα για την εκάστοτε ποιοτική παράμετρο.

6. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ & ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

6.1 ΓΙΑΟΥΡΤΙ ΤΥΠΟΥ ΣΕΤ ΑΠΟ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟ ΓΑΛΑ

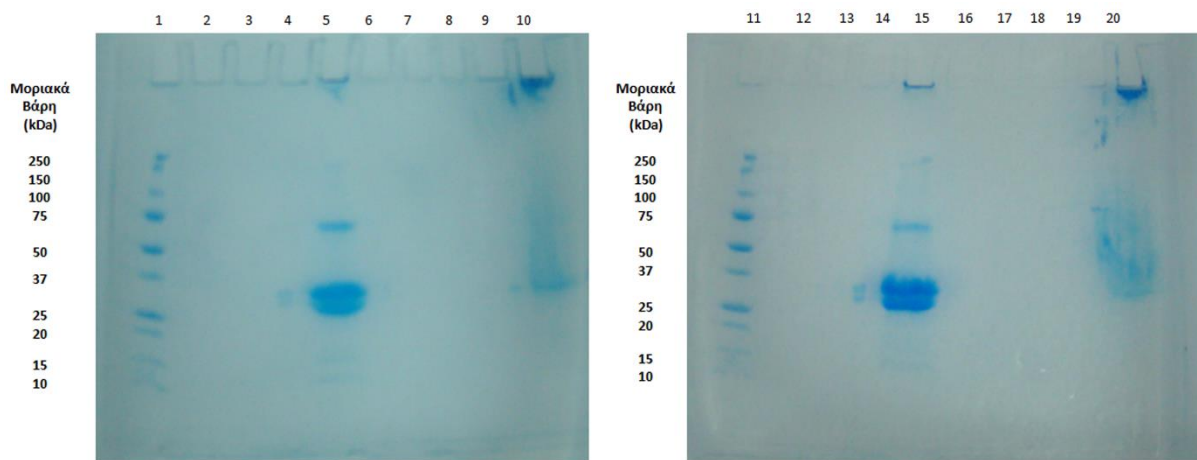
Σ' αυτή την παράγραφο θα γίνει παρουσίαση των αποτελεσμάτων σχετικά με την επίδραση της εφαρμογής της ΥΠ και της ενζυμικής επεξεργασίας του αγελαδινού γάλακτος στην κινητική της ζύμωσης, τη μετουσίωση των πρωτεϊνών του γάλακτος, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά, τη μικροδομή και τα βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού τύπου σετ, τόσο μετά την παραγωγή του πηγματος όσο και μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης.

6.1.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

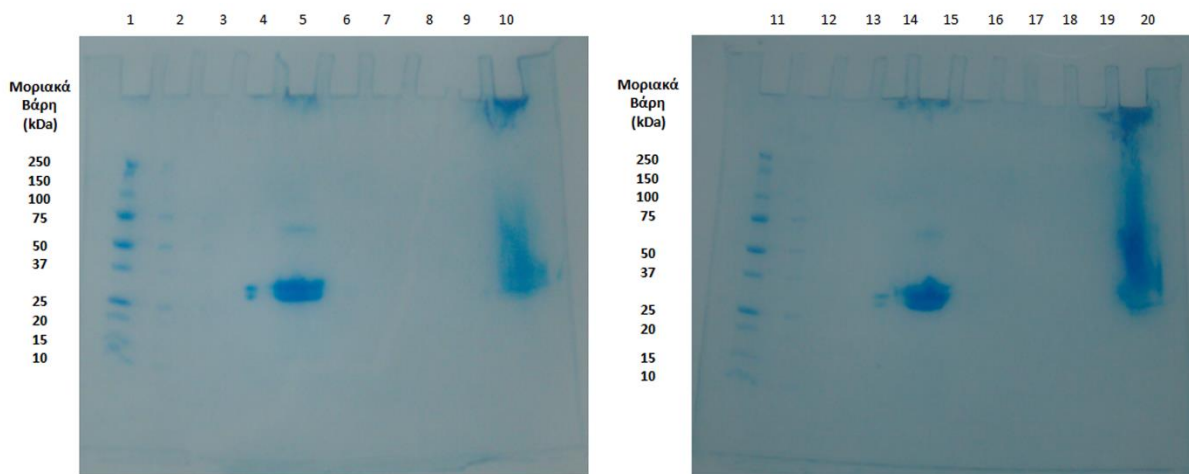
Για να εκτιμηθεί η επίδραση των διαφόρων εναλλακτικών τεχνολογιών στις πρωτεΐνες του γάλακτος πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών σε πηκτή πολυακρυλαμίδιου. Στην **Εικόνα 6.1** παρουσιάζεται η πηκτή ηλεκτροφόρησης του γάλακτος με 0% λιπαρά (B0), ενώ στην **Εικόνα 6.2** παρουσιάζεται η πηκτή ηλεκτροφόρησης του γάλακτος με 2% λιπαρά και προσθήκη πρωτεΐνης σε ποσοστό 1,62% (B2WP). Και στις δύο εικόνες απεικονίζονται στις στήλες 1 και 11 τα πρότυπα μοριακά βάρη των μαρτύρων, στη στήλη 5 απεικονίζεται το θερμικά επεξεργασμένο γάλα (αραιωμένο 5x), στη στήλη 10 το θερμικά και ακολούθως ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα (αραιωμένο 2x), στη στήλη 15 το επεξεργασμένο με ΥΠ γάλα (αραιωμένο 5x) και, στη στήλη 20 το επεξεργασμένο με ΥΠ και ακολούθως ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα (αραιωμένο 2x).

Στην **Εικόνα 6.1** φαίνεται από τη στήλη 5 της πηκτής που αφορά στο θερμικά επεξεργασμένο γάλα ότι οι καζεΐνες είναι παρούσες σε μεγάλες ποσότητες, ενώ οι πρωτεΐνες ορού εμφανίζονται με πολύ αχνές ζώνες ($MW_{\beta-Lg}=18$ kDa, $MW_{\alpha-La}=14$ kDa). Παρόμοιο αποτέλεσμα στις πρωτεΐνες γάλακτος φαίνεται να έχει και η επεξεργασία με ΥΠ (στήλη 10). Η επεξεργασία με TGase, όπως απεικονίζεται στις στήλες 10 και 20 οδήγησε σε απουσία καζεϊνών, επιβεβαιώνοντας το σχηματισμό ενδο- και διαμοριακών διασυνδέσεων μεταξύ των καζεϊνικών μικκυλίων. Τα δείγματα

που είχαν υποστεί ενζυμική επεξεργασία αραιώθηκαν 2 φορές σε ρυθμιστικό διάλυμα, για να προσδιοριστούν τυχόν υπόλοιπα καζεΐνης. Αντίστοιχες παρατηρήσεις προκύπτουν και από την **Εικόνα 6.2** για το δείγμα γάλακτος στο οποίο είχε γίνει προσθήκη πρωτεΐνης ορού σε ποσοστό 1,62%.



Εικόνα 6. 1 Πηκτή ηλεκτροφόρησης SDS-PAGE γάλακτος με περιεκτικότητα 0% σε λιπαρά και 3,1% σε πρωτεΐνη



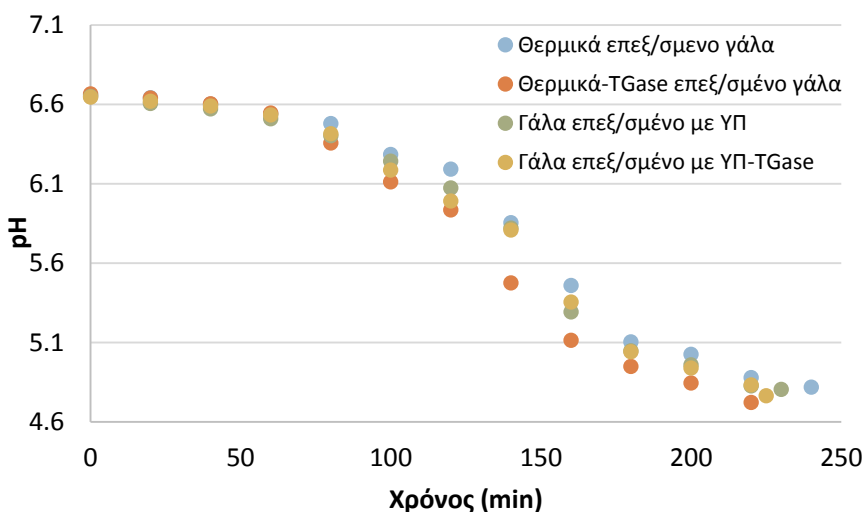
Εικόνα 6. 2 Πηκτή ηλεκτροφόρησης SDS-PAGE γάλακτος με περιεκτικότητα 2% σε λιπαρά και 4,3% σε πρωτεΐνη

6.1.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ

Στο **Διάγραμμα 6.1** παρουσιάζονται οι καμπύλες της οξυγαλακτικής ζύμωσης των διαφορετικά επεξεργασμένων δειγμάτων γάλακτος με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά. Κατά την διαδικασία της ζύμωσης, οι τιμές του pH σε συνάρτηση με το χρόνο, δημιουργούν μια καμπύλη στην οποία διακρίνονται τρεις διακριτές φάσεις:

- 1^η φάση: η λανθάνουσα φάση, που χαρακτηρίζεται από μικρή κλίση, και κατά την οποία αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός *Str. thermophilus* και παράγονται τα πρωτεϊνικά μεταβολικά προϊόντα που ενεργοποιούν την δράση του στελέχους *L. bulgaricus*
- 2^η φάση: η εκθετική φάση, που χαρακτηρίζεται από μεγάλη κλίση, και κατά την οποία παρατηρείται η συμβιωτική δράση των στελεχών *Str. thermophilus* και *L. bulgaricus*
- 3^η φάση: η περαιτέρω μείωση του ρυθμού οξίνισης του γάλακτος, που χαρακτηρίζεται από μικρή κλίση και κατά την οποία αναπτύσσεται μόνο το στέλεχος του *L. bulgaricus*, διότι παρουσιάζει μεγάλη αντοχή σε μικρότερες τιμές pH

Κατά τη ζύμωση, η μεταβολή του pH συναρτήσει του χρόνου μπορεί να περιγραφεί από το τροποποιημένο μοντέλο Gompertz (de Brabandere & de Baerdemaeker 1999), μέσω του οποίου προκύπτουν και οι κινητικές παράμετροι της ζύμωσης.



Διάγραμμα 6. 1 Καμπύλες οξυγαλακτικής ζύμωσης των δειγμάτων γάλακτος που έχουν υποστεί διαφορετικές επεξεργασίες

Στον **Πίνακα 6.1** παρουσιάζονται οι κινητικές παράμετροι και οι χρόνοι ζύμωσης για τα όξινα πήγματα διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά και πρωτεΐνη και τις διαφορετικές μεθόδους επεξεργασίας του γάλακτος. Η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης εξαρτάται από πολλές παραμέτρους όπως οι συνθήκες επώασης, η σύσταση του γάλακτος (ολικά στερεά, Σ.Υ.Α.Λ.,

σάκχαρα, κ.ά.), η παρουσία διεγερτικών ή ανασταλτικών παραγόντων των οξυγαλακτικών βακτηρίων, κ.ά. (Tamime & Robinson 2007).

Πίνακας 6. 1 Κινητικές παράμετροι (λ , μ) και χρόνος ζύμωσης (min) αγελαδινών όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά και πρωτεΐνη

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΦΑΣΗ λ (min)	ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΡΥΘΜΟΣ ΟΞΙΝΙΣΗΣ μ (pH/ min)	R ²	ΧΡΟΝΟΣ ΖΥΜΩΣΗΣ (min)
B0				
CNT	121 ^j ($\pm 1,4$)	0,0181 ^{cde} ($\pm 0,0010$)	0,997	250 ^e (± 10)
TG	102 ^{cd} ($\pm 0,3$)	0,0186 ^{bc} ($\pm 0,0002$)	0,997	220 ^{cd} (± 5)
HP	117 ^h ($\pm 0,0$)	0,0184 ^{cd} ($\pm 0,0000$)	0,996	230 ^d (± 10)
HPTG	112 ^f ($\pm 0,0$)	0,0181 ^{cde} ($\pm 0,0010$)	0,997	225 ^d (± 10)
BOWP				
CNT	97,8 ^b ($\pm 0,0$)	0,0189 ^{bc} ($\pm 0,0001$)	0,995	200 ^{ab} (± 0)
TG	96,4 ^b ($\pm 0,6$)	0,0171 ^{ef} ($\pm 0,0001$)	0,998	210 ^{bc} (± 10)
HP	105 ^{de} ($\pm 1,9$)	0,0172 ^{def} ($\pm 0,0007$)	0,997	225 ^d (± 5)
HPTG	104 ^{de} ($\pm 0,6$)	0,0189 ^{bc} ($\pm 0,0002$)	0,998	195 ^a (± 5)
B2				
CNT	116 ^{gh} ($\pm 1,1$)	0,0181 ^{cde} ($\pm 0,0004$)	0,999	220 ^{cd} (± 15)
TG	90,4 ^a ($\pm 0,6$)	0,0190 ^{bc} ($\pm 0,0012$)	0,998	190 ^a (± 10)
HP	123 ^j ($\pm 0,0$)	0,0198 ^{ab} ($\pm 0,0000$)	0,996	230 ^d (± 0)
HPTG	107 ^e ($\pm 0,0$)	0,0185 ^{bc} ($\pm 0,0000$)	0,998	210 ^{bc} (± 5)
B2WP				
CNT	112 ^{fg} ($\pm 3,2$)	0,0209 ^a ($\pm 0,0002$)	0,996	200 ^{ab} (± 0)
TG	96,1 ^b ($\pm 4,9$)	0,0189 ^{bc} ($\pm 0,0001$)	0,998	200 ^{ab} (± 0)
HP	111 ^f ($\pm 4,9$)	0,0190 ^{bc} ($\pm 0,0004$)	0,997	225 ^d (± 5)
HPTG	99,2 ^{bc} ($\pm 4,2$)	0,0189 ^{bc} ($\pm 0,0002$)	0,999	200 ^{ab} (± 10)

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Η επεξεργασία του γάλακτος με TGase οδήγησε σε σημαντική μείωση ($p < 0,001$) της λανθάνουσας φάσης της ζύμωσης αλλά και σε μικρή αλλά στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$) μείωση στο ρυθμό οξίνισης, σε σχέση με την επεξεργασία της ΥΠ στο γάλα, που οδήγησε σε μεγαλύτερους χρόνους λανθάνουσας φάσης ακόμη και από το γάλα που είχε επεξεργαστεί θερμικά, ενώ δεν φάνηκε να επηρεάζει το μέγιστο ρυθμό οξίνισης. Το γάλα που είχε επεξεργαστεί με ΥΠ και στη συνέχεια τροποποιήθηκε το πρωτεϊνικό του περιεχόμενο με TGase, οδήγησε σε μικρότερη τιμή της λανθάνουσας φάσης, αλλά ήταν σημαντικά ($p < 0,01$) μεγαλύτερη από την διάρκεια της λανθάνουσας φάσης του ενζυμικά επεξεργασμένου γάλακτος. Η σύσταση του γάλακτος σε λιπαρά

δεν επηρεάζει σημαντικά τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης. Αντίθετα, η προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης επηρέασε σημαντικά την παράμετρο λ. Συγκεκριμένα, με την αύξηση του πρωτεϊνικού περιεχομένου επήλθε σημαντική ($p < 0,01$) μείωση στη παράμετρο αυτή.

Κατά τη λανθάνουσα φάση παράγονται τα απαραίτητα πρωτεολυτικά ένζυμα από τη δράση του *L. bulgaricus*, τα οποία απελευθερώνουν τα αμινοξέα που ενεργοποιούν τη δράση του *S. thermophilus* (Tamime & Robinson 2007). Αν και σε παλιότερες έρευνες (Tsevdou et al. 2013a, b, Bönisch et al. 2007, Lorenzen et al. 2002) έχουν δείξει πως η επεξεργασία του γάλακτος με TGase επιμηκύνει τόσο τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης, όσο και τη διάρκεια της ζύμωσης, ωστόσο αυτό δεν παρατηρήθηκε παρατηρούνται στη συγκεκριμένη μελέτη. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα πως και η διαφορετική σύσταση του γάλακτος επηρεάζει τις κινητικές παραμέτρους της ζύμωσης (Tsevdou et al. 2013b).

6.1.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ

Στον Πίνακα 6.2 παρουσιάζεται το φορτίο των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (*Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*, αντίστοιχα), στα όξινα πηγμάτα διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά και πρωτεΐνη, και τις διαφορετικές μεθόδους επεξεργασίας του γάλακτος, όπως μετρήθηκε 3 ημέρες μετά την παρασκευή των δειγμάτων.

Πίνακας 6. 2 Μικροβιακό φορτίο (\log_{10} CFU/g) καλλιέργειας εκκίνησης πρόβειων όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά και πρωτεΐνες

<i>Str. thermophilus</i>		% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ			
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	B0	B0WP	B2	B2WP	
CNT	8,96 ^{cd} ($\pm 0,04$)	8,94 ^{cde} ($\pm 0,06$)	8,48 ^a ($\pm 0,09$)	9,24 ^e ($\pm 0,06$)	
TG	8,98 ^{cde} ($\pm 0,05$)	8,94 ^{abcd} ($\pm 0,11$)	8,47 ^a ($\pm 0,03$)	9,23 ^e ($\pm 0,01$)	
HP	9,06 ^{cde} ($\pm 0,01$)	8,88 ^{bcde} ($\pm 0,00$)	8,57 ^{ab} ($\pm 0,04$)	9,16 ^{de} ($\pm 0,02$)	
HPTG	9,07 ^{cde} ($\pm 0,02$)	8,72 ^{abc} ($\pm 0,76$)	8,54 ^{ab} ($\pm 0,02$)	9,19 ^{de} ($\pm 0,03$)	
<i>L. bulgaricus</i>		% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ			
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	B0	B0WP	B2	B2WP	
CNT	4,01 ^{cd} ($\pm 0,30$)	3,81 ^{cd} ($\pm 0,00$)	4,08 ^d ($\pm 0,02$)	3,89 ^{cd} ($\pm 0,04$)	
TG	3,94 ^{cd} ($\pm 0,13$)	3,73 ^{bcd} ($\pm 0,13$)	3,74 ^{bcd} ($\pm 0,00$)	3,15 ^a ($\pm 0,78$)	
HP	3,98 ^{cd} ($\pm 0,19$)	3,69 ^{bcd} ($\pm 0,12$)	3,51 ^{abc} ($\pm 0,29$)	3,80 ^{cd} ($\pm 0,01$)	
HPTG	3,60 ^{abcd} ($\pm 0,43$)	3,29 ^{ab} ($\pm 0,02$)	3,53 ^{abc} ($\pm 0,04$)	3,74 ^{bcd} ($\pm 0,02$)	

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Η διεθνής νομοθεσία ορίζει (Codex Alimentarius 2011) ως κατώτατο όριο του συνολικού μικροβιακού φορτίου τους 7,0 log₁₀CFU/g και το συνολικό φορτίο βρέθηκε υψηλότερο από το όριο αυτό. Ανάμεσα στα δύο στελέχη της καλλιέργειας εκκίνησης, ο *L. bulgaricus* φάνηκε να επηρεάζεται μόνο από σχεδιαστικές τις παραμέτρους του πειράματος, και συγκεκριμένα από την εφαρμοζόμενη επεξεργασία του γάλακτος ($p < 0,01$), εμφανίζοντας χαμηλότερο μικροβιακό φορτίο στα δείγματα που είχαν παρασκευαστεί από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ ή ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα σε σχέση με το φορτίο των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένο γάλα.

6.1.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

6.4.1.1 ΤΙΤΛΟΔΟΤΟΥΜΕΝΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΚΑΙ ΡΗ

Οι μεταβολές στην τιμή του pH αλλά και της τιτλοδοτούμενης οξύτητας (Τ.Ο.), εκφρασμένης ως % γαλακτικό οξύ, ανάλογα με την επεξεργασία και την μεταβολή της περιεκτικότητας σε λιπαρά και πρωτεΐνη παρουσιάζονται στον **Πίνακα 6.3**.

Πίνακας 6.3 Μεταβολή της οξύτητας αγελαδινών όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά και πρωτεΐνη

pH	% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ			
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	B0	B0WP	B2	B2WP
<i>CNT</i>	4,36 ^c (±0,01)	4,40 ^{cd} e (±0,01)	4,48 ^g (±0,01)	4,27 ^b (±0,05)
<i>TG</i>	4,22 ^{ab} (±0,01)	4,45 ^{ef} (±0,02)	4,43 ^{def} (±0,00)	4,53 ^{gh} (±0,06)
<i>HP</i>	4,37 ^{cd} (±0,03)	4,47 ^f (±0,02)	4,27 ^b (±0,00)	4,54 ^h (±0,04)
<i>HPTG</i>	4,18 ^a (±0,03)	4,42 ^{def} (±0,04)	4,21 ^{ab} (±0,02)	4,27 ^b (±0,08)
% Γαλακτικό Οξύ	% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ			
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	B0	B0WP	B2	B2WP
<i>CNT</i>	0,94 ^b (±0,01)	0,77 ^a (±0,01)	0,79 ^a (±0,01)	1,08 ^d (±0,02)
<i>TG</i>	1,01 ^c (±0,02)	0,74 ^a (±0,00)	0,79 ^a (±0,01)	0,79 ^a (±0,01)
<i>HP</i>	0,92 ^b (±0,01)	0,79 ^a (±0,00)	1,09 ^d (±0,01)	0,77 ^a (±0,00)
<i>HPTG</i>	1,00 ^c (±0,03)	0,79 ^a (±0,00)	1,07 ^d (±0,01)	1,06 ^d (±0,10)

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Η διαδικασία της ζύμωσης διακόπηκε για τιμή pH 4,75, και μετά από 3 ημέρες η τιμή pH των δειγμάτων ήταν 4,54-4,18. Η μείωση αυτή οφείλεται στη συνεχιζόμενη δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την ψύξη των όξινων πηγμάτων μετά τη ζύμωσή τους και μέχρι η

θερμοκρασία τους να φτάσει τους 4°C. Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν από γάλα που είχε επεξεργαστεί με τη συνδυασμένη επεξεργασία με ΥΠ και TGase εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερη μεταβολή ($p < 0,01$) στην τιμή του pH σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Έχει αναφερθεί πως η επεξεργασία του γάλακτος με TGase επηρεάζει την οξύτητα του τελικού προϊόντος, αλλά μετά από αποθήκευση των τελικών προϊόντων υπό συνθήκες ψύξης, το φαινόμενο της μετα-οξίνισης παρατηρείται μειωμένο για τα δείγματα που το γάλα είχε υποστεί ενζυμική επεξεργασία σε σχέση με αυτά που δεν έχουν επεξεργαστεί με τον ίδιο τρόπο (Farnsworth et al. 2006, Özer et al. 2007). Για τα συγκεκριμένα δείγματα, μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης, παρατηρήθηκε περαιτέρω πτώση του pH, αλλά η μικρότερη μεταβολή παρατηρήθηκε στα δείγματα που είχαν υποστεί την συνδυαστική επεξεργασία (2,8% μείωση του σ.μ.ο⁹), ενώ μεγαλύτερη μεταβολή παρατηρήθηκε στα δείγματα που το γάλα είχε επεξεργαστεί είτε με ΥΠ, είτε με TGase (5% πτώση του σ.μ.ο).

Η τιμή της τιτλοδοτούμενης οξύτητας του γάλακτος μετά από 3 ημέρες από την παραγωγή των ζυμωμένων προϊόντων κυμάνθηκε σε τιμές (0,77-1,09%. Τα δείγματα με χαμηλότερη σύσταση σε λιπαρά εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές ($p < 0,01$) οξύτητας, σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, ενώ η προσθήκη πρωτεΐνης ορού δεν επηρέασε τις τιμές της οξύτητας. Στις τελικές τιμές οξύτητας, δηλαδή μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές που να οφείλονται στη μέθοδο επεξεργασίας. Αξίζει να σημειωθεί, πως το γάλα που είχε επεξεργαστεί με συνδυασμό των δύο εναλλακτικών τεχνολογιών εμφάνισε το χαμηλότερο ρυθμό οξίνισης (σ.μ.ο. από 0,97-1,07%), κάτι που πιθανόν οφείλεται σε μία πιθανή καθυστέρηση του μικροβιακού πολλαπλασιασμού και επομένως στην πιο αργή ανάπτυξη ενός όξινου περιβάλλοντος (Özer et al. 2007).

6.4.1.2 ΧΡΩΜΑ

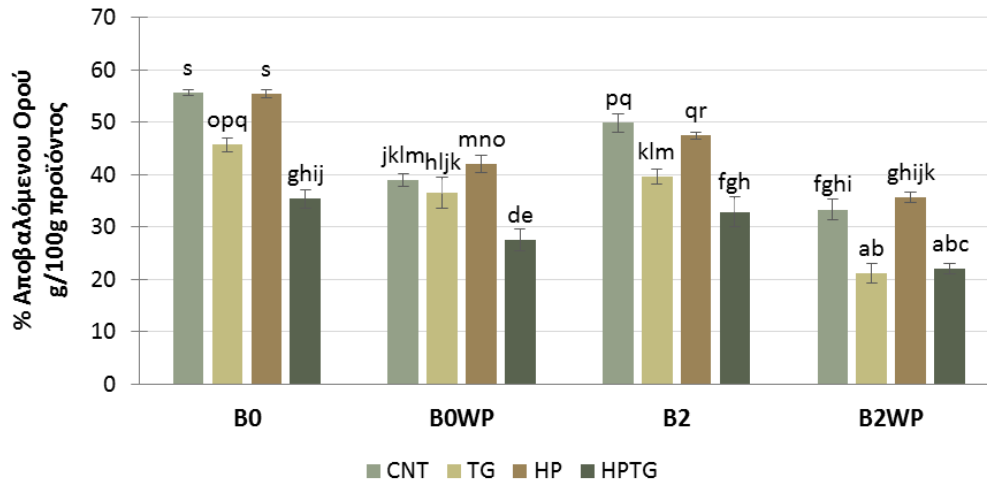
Σύμφωνα με τους Chawla et al. (2011), το άσπρο χρώμα του γάλακτος οφείλεται στη σκέδαση του φωτός από σφαιρίδια λίπους και καζεϊνικών μικυλλίων. Όμως, κατά την εφαρμογή της ΥΠ στο γάλα τα καζεϊνικά μικύλλια αποσυντίθενται και ελαττώνονται σε μέγεθος, με αποτέλεσμα το γάλα να χάνει το άσπρο του χρώμα και να γίνεται πιο κιτρινωπό. Ωστόσο, η επεξεργασία του γάλακτος δεν επηρέασε το χρώμα των τελικών όξινων πηγμάτων, και η τιμή του ολικού χρώματος των παραγόμενων δειγμάτων βρέθηκε ίση με $85,7 \pm 0,9$ ανεξαρτήτως της επεξεργασίας και της σύστασης του γάλακτος.

6.4.1.3 ΣΥΝΑΙΡΕΣΗ

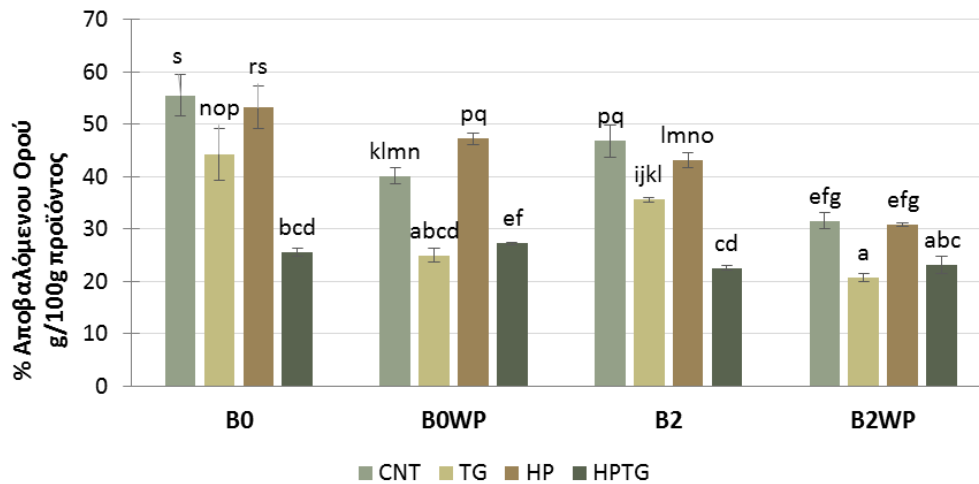
Στο **Διάγραμμα 6.2** παρουσιάζεται το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού (g/ 100 g προϊόντος) από τα παραγόμενα πηγμάτα 3 ημέρες μετά από την παραγωγή τους, και το πώς αυτό επηρεάστηκε από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας και τη σύσταση του γάλακτος, και

⁹ σ.μ.ο.: στατιστικός μέσος όρος

αντίστοιχα, στο **Διάγραμμα 6.3** παρουσιάζεται το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης.



Διάγραμμα 6. 2 Αρχικές τιμές (3 ημέρες) συναίρεσης αγελαδινών όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά & πρωτεΐνη συναρτήσει της επεξεργασίας του γάλακτος (Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=6$)).



Διάγραμμα 6. 3 Μεταβολή της συναίρεσης αγελαδινών όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά & πρωτεΐνη συναρτήσει της επεξεργασίας του γάλακτος μετά από αποθήκευση 40 ημερών (Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=6$)).

Όταν το γάλα επεξεργάστηκε ενζυμικά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του ποσοστού αποβαλλόμενου ορού ($p<0,001$) στα δείγματα, συγκριτικά με την περίπτωση των δειγμάτων όπου το γάλα είχε επεξεργαστεί είτε θερμικά, είτε με ΥΠ. Το μικρότερο ποσοστό αποβαλλόμενου ορού

παρατηρήθηκε στα δείγματα, των οποίων το γάλα είχε επεξεργαστεί με ΥΠ και κατόπιν ενζυμικά. Αναφορικά με τη σύσταση του γάλακτος, παρατηρήθηκε ότι, αυξανόμενης της περιεκτικότητας του γάλακτος είτε σε λιπαρά είτε σε πρωτεΐνη, τα δείγματα εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές συναίρεσης, ανεξαρτήτως της επεξεργασίας του γάλακτος, ως αποτέλεσμα της αύξησης των ολικών στερεών του γάλακτος. Συγκεκριμένα, στο γιαούρτι από γάλα με περιεκτικότητα 2% σε λιπαρά και 4,3% σε πρωτεΐνη, που είχε επεξεργαστεί ενζυμικά με /ή χωρίς συνδυασμό με την επεξεργασία με ΥΠ, παρατηρήθηκε μείωση της συναίρεσης της τάξης περίπου 30-40% σε σχέση με τα δείγματα που παρασκευάστηκαν από γάλα με 2% περιεκτικότητα σε λιπαρά και 3,1% σε πρωτεΐνη (για τις ίδιες τεχνολογίες επεξεργασίας του γάλακτος).

Όταν το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού μετρήθηκε μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης του προϊόντος, παρατηρήθηκε μείωση του αποβαλλόμενου ορού σε ποσοστό περίπου κατά 5% για όλα τα μελετώμενα δείγματα, χωρίς να παρατηρούνται διαφορές ως προς την επίδραση της επεξεργασίας ή/και της σύστασης του γάλακτος.

Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα, η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ μπορεί να προκαλέσει (ανάλογα με τις συνθήκες που εφαρμόζεται) σημαντική διάσπαση των καζεϊνικών μικυλλίων και μετουσίωση των πρωτεϊνών ορού. Όταν όμως η εφαρμοζόμενη πίεση εκτονώνεται, τα καζεϊνικά μικύλλια τείνουν να επανασυνδεθούν, σε πιέσεις άνω των 450 MPa και θερμοκρασίες της τάξης των 70-90°C, με αποτέλεσμα το σχηματισμό μικρότερων μικυλλίων από τα αρχικά (Udabage et al. 2010), οδηγώντας σε μείωση του φαινομένου της συναίρεσης στα όξινα πήγματα.

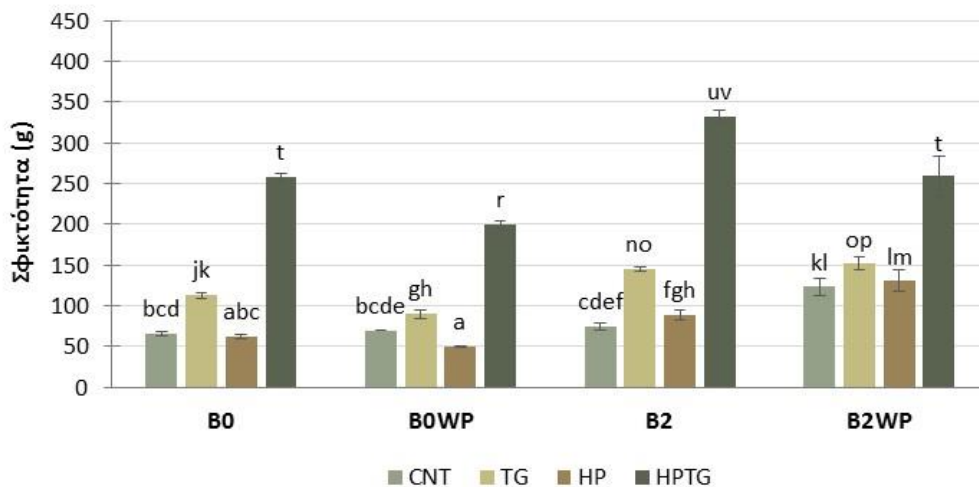
Επιπλέον, η εφαρμογή της ενζυμικής επεξεργασίας στα δείγματα αυξάνει το βαθμό διασυνδέσεων των πρωτεϊνών ορού και των διαμοριακών διασυνδέσεων μεταξύ καζεϊνών και πρωτεϊνών ορού (Anema et al. 2005). Ειδικά, όταν εφαρμόζεται σε γάλα που έχει ήδη υποστεί επεξεργασία με ΥΠ, ο βαθμός αυτός αυξάνεται (Tsevdou et al. 2013a), με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός ισχυρότερου πρωτεϊνικού δικτύου με μικρότερα καζεϊνικά μικκύλια, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη ικανότητα κατακράτησης του νερού, και άρα μικρότερες τιμές συναίρεσης.

6.1.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΦΗΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

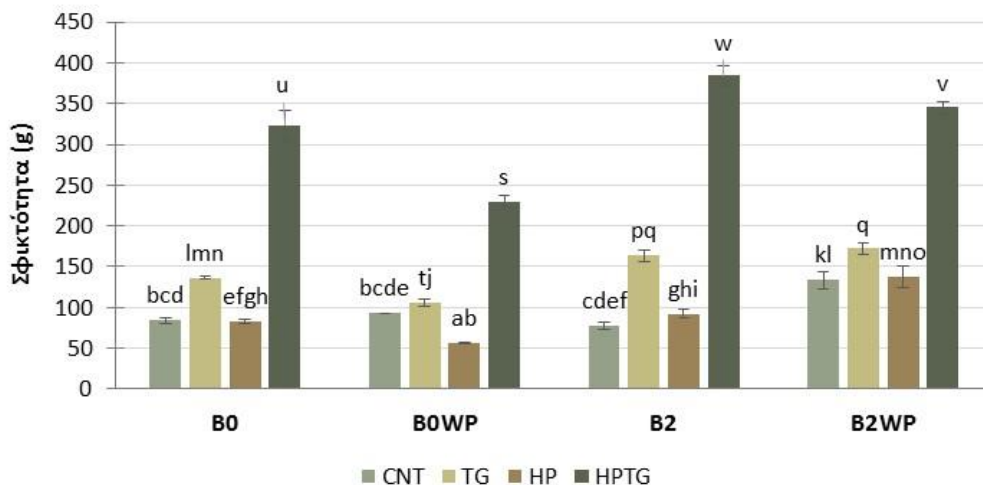
Στο **Διάγραμμα 6.4** παρουσιάζονται οι τιμές σφικτότητας από τα παραγόμενα πήγματα 3 ημέρες μετά από την παραγωγή τους, και το πώς αυτά επηρεάστηκαν από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας και τη σύσταση του γάλακτος, στο **Διάγραμμα 6.5** παρουσιάζονται οι τιμές σφικτότητας των πηγμάτων μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης στους 4°C.

Η σφικτότητα των εξεταζόμενων γιαουρτιών φάνηκε να επηρεάζεται σημαντικά ($p < 0,001$) από όλες τις σχεδιαστικές παραμέτρους του πειράματος. Συγκεκριμένα, η επεξεργασία του γάλακτος με TGase βελτίωσε την σφικτότητα του πηγματος, αλλά η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές, σε σχέση με την απλή θερμική επεξεργασία. Η αδυναμία της ΥΠ να βελτιώσει της ιδιότητες υφής του πηγματος, οφείλεται στο γεγονός ότι η α -La είναι

αρκετά ανθεκτική υπό συνθήκες ΥΠ και μόνο η β -Lg μπορεί να μετουσιωθεί, κάτι που υποδηλώνει την ανάγκη για μία επακόλουθη θερμική επεξεργασία του γάλακτος (85°C/ 20-30 min), προκειμένου να παραχθεί ένα προϊόν με βελτιωμένη δομή (Harte et al. 2003). Ο συνδυασμός των δύο εναλλακτικών τεχνολογιών στο γάλα επέφερε τις μεγαλύτερες τιμές σφικτότητας, σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, επιβεβαιώνοντας την υπόθεση ότι η εν σειρά εφαρμογή των δύο μελετώμενων τεχνολογιών μπορεί να επιφέρει παρόμοια αποτελέσματα με την επεξεργασία του γάλακτος με TGase υπό συνθήκες ΥΠ (Anema et al. 2005).



Διάγραμμα 6. 4 Αρχικές τιμές (3 ημέρες) σφικτότητας αγελαδινών όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά & πρωτεΐνη συναρτήσει της επεξεργασίας του γάλακτος (Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=6$)).



Διάγραμμα 6. 5 Μεταβολή της σφικτότητας αγελαδινών όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά & πρωτεΐνη συναρτήσει της επεξεργασίας του γάλακτος μετά από αποθήκευση 40 ημερών (Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=6$)).

Σημαντικά ($p < 0,001$) επέδρασε και η συγκέντρωση των λιπαρών στο γάλα, με το γιαούρτι με 2% περιεκτικότητα σε λιπαρά να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τιμή σφικτότητας. Η προσθήκη της πρωτεΐνης ορού στην πρώτη ύλη, είχε ως αποτέλεσμα σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές στις τιμές της σφικτότητας, διότι επέφεραν χαμηλότερη τιμή αυτής της ιδιότητας σε σχέση με τα δείγματα στα οποία δεν πραγματοποιηθεί προσθήκη πρωτεΐνης στο γάλα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι στα δείγματα που δεν είχε πραγματοποιηθεί προσθήκη η αναλογία των καζεϊνών και των πρωτεϊνών ορού ήταν 80/20, η οποία μεταβλήθηκε μετά την προθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης σε 78,7/21,3. Συνεπώς, το γάλα χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης περιείχε μεγαλύτερο ποσοστό σε υπόστρωμα για τη δράση της TGase (O'Connell & de Kruijff 2003).

Οι τιμές της σφικτότητας των εξεταζόμενων δειγμάτων αυξήθηκαν σημαντικά ($p < 0,001$) μετά από αποθήκευση 40 ημερών στους 4°C, κάτι που συνοδεύεται και με την αντίστοιχη μείωση στον αποβαλλόμενο ορό, το οποίο οφείλεται στο συνεχιζόμενο μεν, αλλά επιβραδυνόμενο δε, μεταβολισμό των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης. Μετά την τιμή pH 4,6 (που αποτελεί το ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών) οι καζεΐνες καθιζάνουν, με αποτέλεσμα, όσο μειώνεται η τιμή του pH, τόσο αυξάνεται η ποσότητα των καζεϊνών που έχει καθιζάνει, το οποίο συνεπάγεται αύξηση στην τιμή της σφικτότητας των δειγμάτων.

Στον **Πίνακα 6.4** παρουσιάζονται οι παράμετροι της προσκολλησιμότητας και της συνεκτικότητας των όξινων πηγμάτων. Όσον αφορά στην παράμετρο της προσκολλησιμότητας, οι σχεδιαστικές παράμετροι επέφεραν σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές στις τιμές της. Η ενζυμική επεξεργασία στο γάλα επέφερε την χαμηλότερη τιμή προσκολλησιμότητας στα δείγματα, ενώ η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ είχε ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη τιμή προσκολλησιμότητας σε σχέση με την εφαρμογή απλής θερμικής επεξεργασίας στο γάλα. Η μετουσίωση των πρωτεϊνών λόγω της εφαρμοζόμενης πίεσης συνοδεύεται από το σχηματισμό πυκνών και ομοιογενών μικυλλίων, και όταν η ΥΠ συνδυάζεται με επακόλουθη θερμική επεξεργασία, προκύπτουν πήγματα ιδιαίτερα κρεμμώδη (Harte et al. 2003). Τα δείγματα με αυξημένα λιπαρά (2%) παρουσίασαν υψηλότερες τιμές προσκολλησιμότητας σε σχέση με τα δείγματα από άπαχο γάλα, ενώ η προσθήκη της πρωτεΐνης στο γάλα επέφερε σημαντικά ($p < 0,001$) χαμηλότερες τιμές προσκολλησιμότητας στο τελικό όξινο πήγμα. Ο χρόνος αποθήκευσης των προϊόντων οδήγησε σε σημαντική ($p < 0,001$) αύξηση στις τιμές της προσκολλησιμότητας, με τις εντονότερες μεταβολές να παρατηρούνται για τα δείγματα από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ και στη συνέχεια με TGase (αύξηση της τάξης περίπου 25%).

Αναφορικά με την παράμετρο της συνεκτικότητας, όλες οι σχεδιαστικές παράμετροι του πειράματος φάνηκε να την επηρεάζουν σημαντικά ($p < 0,001$). Η ενζυμική επεξεργασία και η επεξεργασία με ΥΠ στο γάλα, επέφερε υψηλότερες τιμές συνεκτικότητας στο γιαούρτι σε σχέση με το θερμικά επεξεργασμένο γάλα, ενώ η συνδυαστική επεξεργασία του γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα χαμηλότερη τιμή συνεκτικότητας στο πήγμα. Η σύσταση του γάλακτος σε λιπαρά και η προσθήκη πρωτεΐνης ορού φάνηκε και είναι καθοριστικοί παράγοντες στην διαμόρφωση της συνεκτικότητας του πηγματος. Τα δείγματα με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά παρουσίασαν τις χαμηλότερες τιμές συνεκτικότητας, ενώ τα δείγματα στα οποία είχε πραγματοποιηθεί προσθήκη πρωτεΐνης παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές συνεκτικότητας. Ο δείκτης ελαστικότητας παρέμεινε

σταθερός (0,94±0,01) για όλα τα δείγματα από αγελαδινό γάλα, και δεν επηρεάστηκε από καμία παράμετρο του πειράματος.

Πίνακας 6. 4 Χαρακτηριστικά υφής των αγελαδινών όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά & πρωτεΐνη

Προσκολλησιμότητα (g·s)		% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ			
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	B0	B0WP	B2	B2WP	
<i>CNT</i>	-22,4 ^h (±3,03)	-28,8 ^g (±1,94)	-38,1 ^f (±1,61)	-39,6 ^{ef} (±0,84)	
<i>TG</i>	-20,9 ^h (±1,92)	-28,5 ^g (±1,73)	-34,3 ^{fg} (±2,65)	-21,4 ^h (±0,34)	
<i>HP</i>	-34,0 ^{fg} (±1,00)	-30,6 ^g (±1,58)	-44,6 ^{de} (±4,68)	-69,7 ^b (±0,91)	
<i>HPTG</i>	-46,0 ^{cd} (±6,28)	-40,4 ^{def} (±2,25)	-121 ^a (±8,85)	-51,6 ^c (±3,79)	

Συνεκτικότητα		% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ			
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	B0	B0WP	B2	B2WP	
<i>CNT</i>	0,50 ^{bcd} (±0,01)	0,47 ^{abc} (±0,02)	0,52 ^{cde} (±0,1)	0,55 ^{de} (±0,01)	
<i>TG</i>	0,51 ^{cd} (±0,08)	0,57 ^{ef} (±0,01)	0,53 ^{de} (±0,02)	0,62 ^f (±0,01)	
<i>HP</i>	0,53 ^{de} (±0,02)	0,55 ^{de} (±0,01)	0,52 ^{cde} (±0,01)	0,56 ^{de} (±0,02)	
<i>HPTG</i>	0,45 ^{ab} (±0,00)	0,55 ^{de} (±0,04)	0,44 ^a (±0,01)	0,56 ^{de} (±0,07)	

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

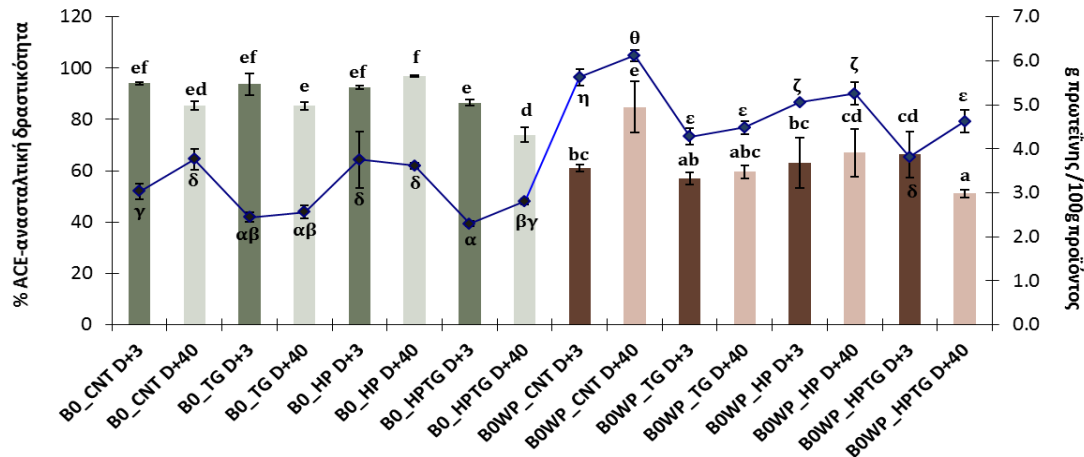
6.1.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΑΝΤΙ-ΥΠΕΡΤΑΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Στο **Διάγραμμα 6.6** παρουσιάζονται οι μετρήσεις της % ACE-ανασταλτικής δραστηριότητας (ράβδοι) και το πρωτεϊνικό περιεχόμενο (γραμμή), για τα όξινα πηγμάτα αγελαδινού γάλακτος 0% περιεκτικότητας σε λιπαρά, και το πώς επηρεάστηκαν από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας, και το χρόνο αποθήκευσης.

Η %ACE-ανασταλτική δραστηριότητα επηρεάστηκε σημαντικά ($p < 0,001$) μόνο από την εφαρμογή της επεξεργασίας της TGase στο γάλα, η οποία παρουσίασε μειωμένη δραστηριότητα σε σχέση με της υπόλοιπες επεξεργασίες, διότι η TGase αυξάνει τον βαθμό διασύνδεσης των πρωτεϊνών, οπότε μειώνεται η ποσότητα των βιο-λειτουργικών πεπτιδίων που δύναται να απελευθερωθούν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης του γάλακτος. Η εφαρμογή της ΥΠ στο γάλα, με ή χωρίς συνεπακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές από την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας στο γάλα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τόσο η θερμική επεξεργασία στο γάλα, όσο και η επεξεργασία με ΥΠ, διασπά τα καζεϊνικά μικκύλια από τα οποία προκύπτουν τα βιο-λειτουργικά πεπτιδία, οπότε αυτά απελευθερώνονται σε μεγαλύτερο βαθμό (Korhonen & Pihlanto 2006). Επιπρόσθετα, τα δείγματα στα οποία έχει γίνει προσθήκη της

πρωτεΐνης ορού στο γάλα, παρουσιάζουν σημαντικά ($p<0,001$) χαμηλότερη αντι-υπερτασική δράση.

Σε όλα τα δείγματα που έχουν υποστεί ενζυμική επεξεργασία, παρατηρείται σημαντική ($p<0,01$) μείωση στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο. Η μείωση αυτή οφείλεται στη δημιουργία των ϵ -(γ -Glu)Lys διασυνδέσεων. Κατά την δημιουργία αυτών των διασυνδέσεων απελευθερώνεται μόρια αμμωνίας, και η μέθοδος υπολογισμού του πρωτεϊνικού περιεχομένου (μέθοδος Kjeldahl) βασίζεται στη μέτρηση του περιεχομένου αζώτου στις πρωτεΐνες.

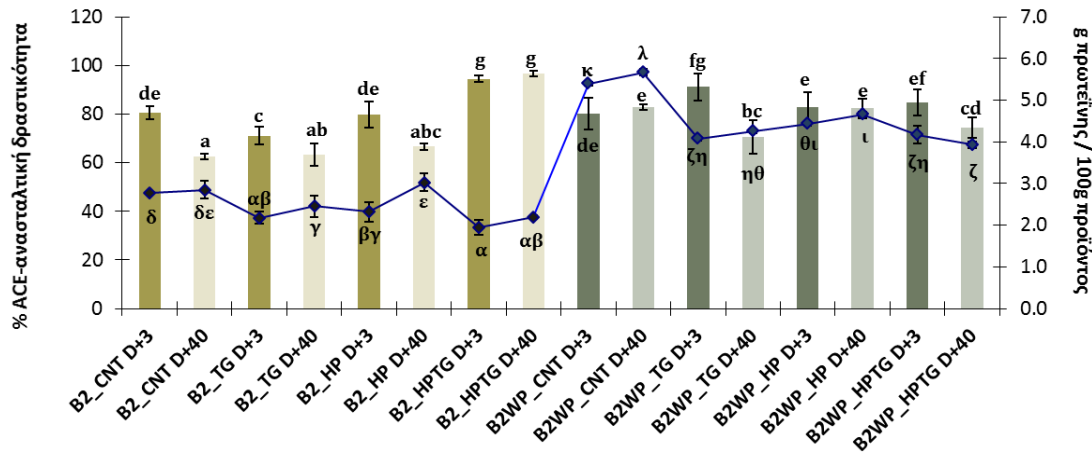


Διάγραμμα 6.6 % ACE- ανασταλτική δραστηριότητα και πρωτεϊνικό περιεχόμενο για τα αγελαδινά όξινα πήγματα με περιεκτικότητα 0% σε λιπαρά σε αρχικό χρόνο (3 ημέρες μετά την παραγωγή, D+3), και τελικό χρόνο (μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης, D+40)

(Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=9$)).

Στο **Διάγραμμα 6.7** παρουσιάζονται οι μετρήσεις της % ACE-ανασταλτικής δραστηριότητας (ράβδοι) και το πρωτεϊνικό περιεχόμενο (γραμμή), από τα όξινα πήγματα αγελαδινού γάλακτος 2% περιεκτικότητας σε λιπαρά, και το πώς επηρεάστηκαν από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας, την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και το χρόνο αποθήκευσης. Στην περίπτωση αυτή η επίδραση της ενζυμικής επεξεργασίας ή της επεξεργασίας με ΥΠ του γάλακτος, δεν επέφερε σημαντικές διαφορές στο ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης του πηγματος. Ωστόσο, η επεξεργασία με ΥΠ, στο γάλα, με συνεπακόλουθη ενζυμική επεξεργασία αύξησε σημαντικά ($p<0,001$) το ποσοστό (περίπου 16%) της αντι-υπερτασικής δράσης των δειγμάτων. Στην περίπτωση που έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης στο γάλα, η επεξεργασία του γάλακτος δεν επηρέασε το ποσοστό της % ACE-ανασταλτικής δραστηριότητας στο τελικό πήγμα. Μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης των δειγμάτων, παρατηρήθηκε μείωση στην αντι-υπερτασική δράση της τάξης περίπου 8,5%, στα δείγματα που έχει προστεθεί εξωγενής πρωτεΐνη, ενώ σ' αυτά που δεν πραγματοποιήθηκε κάποια προσθήκη παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση στην αντι-υπερτασική δράση, της τάξης περίπου 11,5%. Όσον αφορά στην περιεκτικότητα των δειγμάτων σε

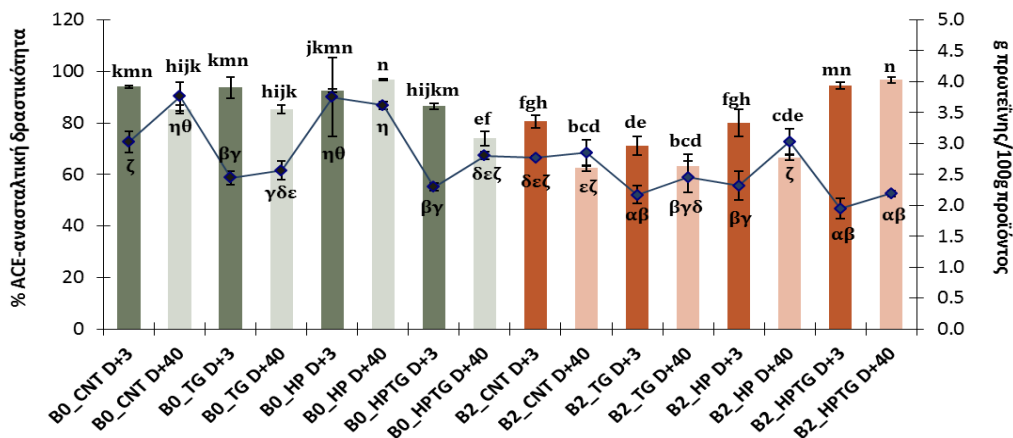
πρωτεΐνη, και εδώ η επεξεργασία του γάλακτος με TGase οδηγεί σε σημαντική ($p < 0,05$) μείωση του πρωτεϊνικού περιεχομένου στα δείγματα.



Διάγραμμα 6. 7 % ACE- ανασταλτική δραστηριότητα και πρωτεϊνικό περιεχόμενο για τα αγελαδινά όξινα πήγματα με περιεκτικότητα 2% σε λιπαρά σε αρχικό χρόνο (3 ημέρες μετά την παραγωγή, D+3), και τελικό χρόνο (μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης, D+40)

(Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=9)).

Στο **Διάγραμμα 6.8** συγκρίνονται οι μετρήσεις της % ACE-ανασταλτικής δραστηριότητας (ράβδοι) από τα όξινα πήγματα αγελαδινού γάλακτος περιεκτικότητας σε λιπαρά 0% και 2%, και το πώς επηρεάστηκαν από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας, την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (γραμμή) και το χρόνο αποθήκευσης.



Διάγραμμα 6. 8 % ACE- ανασταλτική δραστηριότητα και πρωτεϊνικό περιεχόμενο για τα αγελαδινά όξινα πήγματα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2% σε αρχικό χρόνο (3 ημέρες μετά την παραγωγή, D+3), και τελικό χρόνο (μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης, D+40)

(Οι τιμές είναι μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=9)).

Ο στατιστικός μέσος όρος, όσον αφορά στην περιεκτικότητα σε λιπαρά του γάλακτος και το πώς αυτή η παράμετρος επιδρά στο ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης του αγελαδινού γάλακτος, υποδηλώνει πως το γιαούρτι με 2% λιπαρά παρουσιάζει σημαντικά ($p < 0,01$) μεγαλύτερη αντι-υπερτασική δράση. Όμως, τα δείγματα αυτά παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική ($p < 0,01$) μείωση στο ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης του προϊόντος, σε αντίθεση με τα δείγματα από γάλα με 0% λιπαρά, που δεν παρουσίασαν σημαντική μεταβολή στο ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης σε συνάρτηση με το χρόνο.

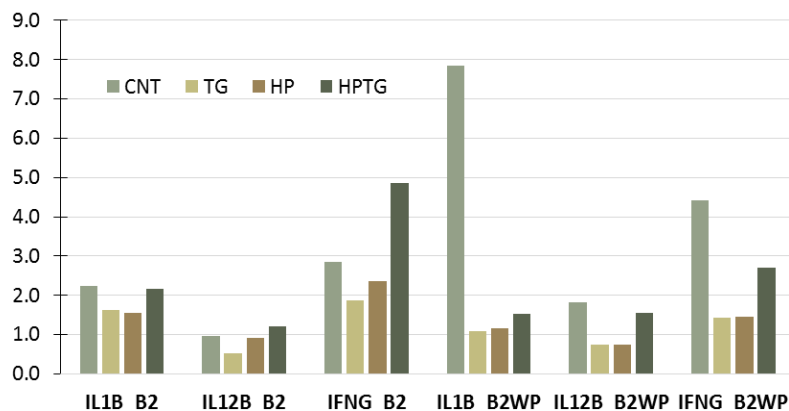
Αξίζει να σημειωθεί πως σε προηγούμενες έρευνες (Donkor et al. 2007, Amirdivani et al. 2011, Unal & Akalm 2012) το ποσοστό της % ACE ανασταλτικής δράσης για δείγματα γιαουρτιού που το γάλα είχε υποστεί θερμική επεξεργασία (85°C για 30 min) υπολογίστηκε να είναι περίπου 60-85% την πρώτη εβδομάδα μετά την παραγωγή του προϊόντος. Το ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης φάνηκε να επηρεάζεται από την βιωσιμότητα του μικροοργανισμού *L. bulgaricus* ο οποίος προκαλεί μεγαλύτερο βαθμό πρωτεόλυσης των πρωτεϊνών και συνεπώς απελευθερώνει μεγαλύτερο ποσοστό βιο-λειτουργικών πεπτιδίων στο γάλα (Paradimitriou et al. 2007). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται καθώς τα δείγματα στα οποία ο μικροοργανισμός αυτός παρουσίασε μεγαλύτερη βιωσιμότητα, παρουσίασαν και μεγαλύτερη αντι-υπερτασική δράση.

Γενικά, τα πεπτίδια που αναστέλλουν την δράση του ACE από τα γαλακτοκομικά προϊόντα, και συγκεκριμένα το γιαούρτι, δεν είναι τόσο αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση της υπέρτασης σε σχέση με τα φαρμακευτική αγωγή που χρησιμοποιείται συνήθως. Ωστόσο, τα προϊόντα αυτά μπορούν να καταταγούν στην κατηγορία των τροφίμων μέτριας βιο-λειτουργικότητας κάτι που τα καταστά απαραίτητα στην καθημερινή διατροφή του ανθρώπου (Meisel et al. 1997).

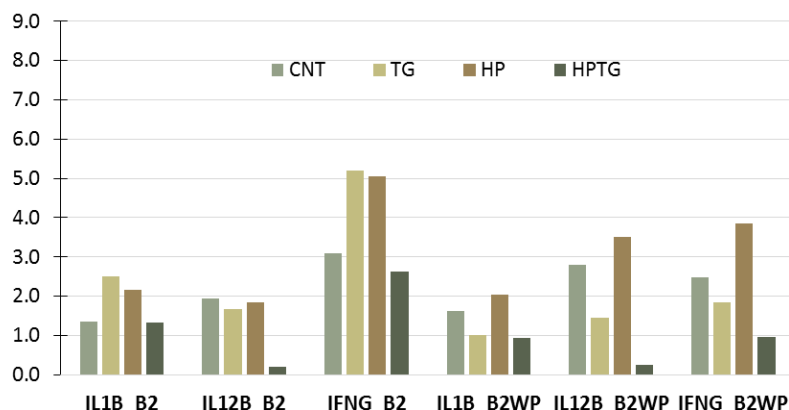
6.1.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΑΝΟΣΟ-ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Τα γονίδια που προσδιορίστηκαν από τα πρόβεια μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα κύτταρα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα προφλεγμονώδη (IL1B, IL12B, IFNG) και τα αντιφλεγμονώδη (IL10, IL1RN, TGFB). Επιπλέον, προσδιορίστηκαν και τα γονίδια INOS και COX-2, τα οποία δεν εντάσσονται πλήρως σε κάποια από τις παραπάνω κατηγορίες, αλλά το πρώτο παρουσιάζει χαρακτηριστικά προφλεγμονώδους, ενώ το δεύτερο παρουσιάζει χαρακτηριστικά αντιφλεγμονώδους γονιδίου. Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται κάποιες προκαταρκτικές μετρήσεις για τα δείγματα από αγελαδινό γάλα με λιποπεριεκτικότητα 2%, με ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης και σχολιάζονται επιγραμματικά κάποιες τάσεις που παρατηρήθηκαν.

Στο **Διαγράμματα 6.9** και **6.10** απεικονίζεται η συγκέντρωση των προφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια ουδετερόφιλα κύτταρα για τα αγελαδινά όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2%, με ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης ορού, σε αρχικό χρόνο (3 ημέρες μετά την παραγωγή) και τελικό χρόνο (40 ημέρες μετά την παραγωγή), αντίστοιχα.



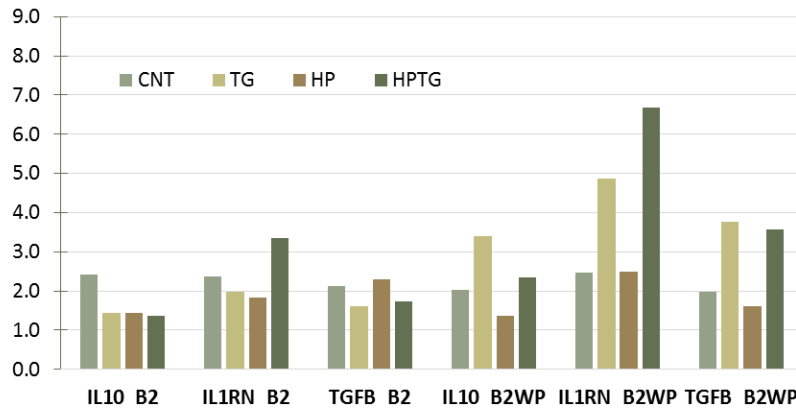
Διάγραμμα 6. 9 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης προφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια ουδετερόφιλα κύτταρα για τα αγελαδινά όξινα πήγματα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2%, με (WP) ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης, 3 ημέρες μετά την παραγωγή (D+3)



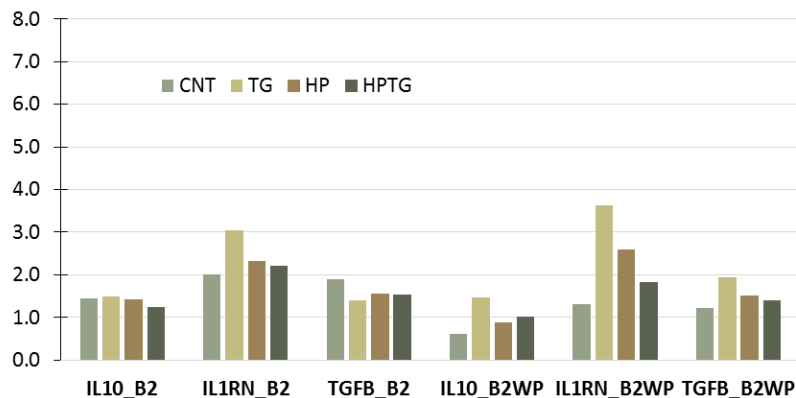
Διάγραμμα 6. 10 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης προφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια ουδετερόφιλα κύτταρα για τα αγελαδινά όξινα πήγματα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2%, με (WP) ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης, 40 ημέρες μετά την παραγωγή (D+40)

Όσον αφορά στην επεξεργασία του γάλακτος, παρατηρείται μια τάση μείωσης της συγκέντρωσης των προφλεγμονωδών γονιδίων, όταν το γάλα υποστεί κάποια εναλλακτική επεξεργασία (επεξεργασία με ΥΠ ή/και TGase), 3 ημέρες μετά την παραγωγή των όξινων πηγμάτων. Επιπλέον, στα δείγματα στο γάλα των οποίων είχε πραγματοποιηθεί προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης ορού, η εφαρμογή των εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας στο γάλα φάνηκε να μειώνει σε μεγαλύτερο βαθμό τη συγκέντρωση των προφλεγμονωδών γονιδίων σε σχέση με το εκάστοτε δείγμα αναφοράς (δείγματα που έχουν υποστεί μόνο θερμική επεξεργασία). Στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης, τα δείγματα που είχαν υποστεί επεξεργασία με ΥΠ και στη συνέχεια με TGase φαίνεται να παρουσιάζουν αρκετά μειωμένη συγκέντρωση των προφλεγμονωδών γονιδίων σε σχέση, τόσο με τα δείγματα αναφοράς, όσο και με τα δείγματα των οποίων το γάλα είχε υποστεί μεμονωμένα κάποια από τις μελετώμενες εναλλακτικές επεξεργασίες.

Στα **Διαγράμματα 6.11** και **6.12** απεικονίζεται η συγκέντρωση των αντιφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια μονοκύτταρα για τα ίδια δείγματα.



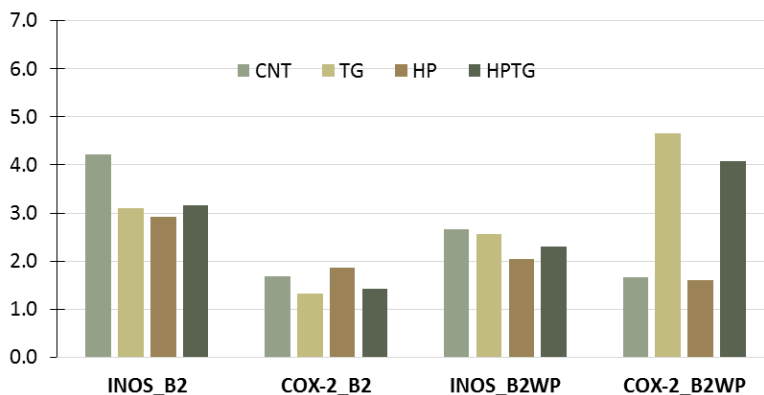
Διάγραμμα 6. 11 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των αντιφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια μονοκύτταρα για τα αγελαδινά όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2%, με (WP) ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης, 3 ημέρες μετά την παραγωγή (D+3)



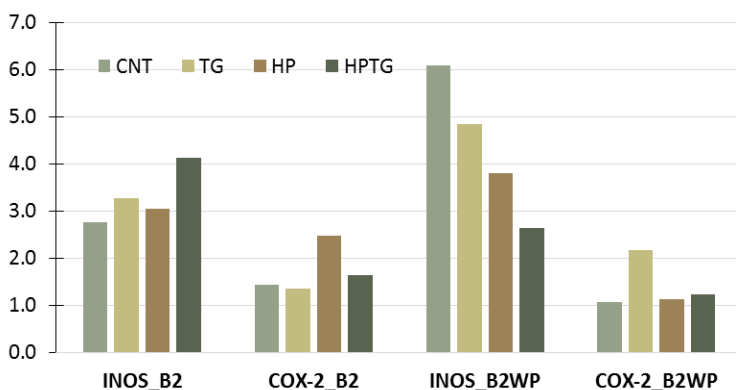
Διάγραμμα 6. 12 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των αντιφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια μονοκύτταρα για τα αγελαδινά όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2%, με (WP) ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης, 40 ημέρες μετά την παραγωγή (D+40)

Από τα παραπάνω διαγράμματα είναι φανερό ότι ως προς την επεξεργασία του γάλακτος, παρατηρείται πως η επεξεργασία με TGase ανεξάρτητα από την προ-επεξεργασία του γάλακτος (θερμική ή ΥΠ), διατηρεί σταθερή ή αυξάνει τη συγκέντρωση των αντιφλεγμονωδών γονιδίων. Η τάση αυτή παρατηρείται ιδιαίτερα αυξημένη για τα δείγματα στων οποίων το γάλα έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη πρωτεϊνών ορού. Η συγκέντρωση των γονιδίων 40 ημέρες μετά την παραγωγή των δειγμάτων φάνηκε να παραμένει είτε σταθερή είτε να μειώνεται σε σχέση με τη συγκέντρωση των γονιδίων 3 ημέρες μετά την παραγωγή των δειγμάτων.

Στα **Διαγράμματα 6.13** και **6.14** απεικονίζεται η συγκέντρωση των γονιδίων INOS και COX-2 από πρόβεια μονοκύτταρα για τα δείγματα από αγελαδινό γάλα με 2% περιεκτικότητα σε λιπαρά, με ή χωρίς προσθήκη πρωτεΐνης.



Διάγραμμα 6. 13 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των γονιδίων INOS και COX-2 από πρόβεια μονοκύτταρα για τα αγελαδινά όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2%, με (WP) ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης, 3 ημέρες μετά την παραγωγή (D+3)



Διάγραμμα 6. 14 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των γονιδίων INOS και COX-2 από πρόβεια μονοκύτταρα για τα αγελαδινά όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 2%, με (WP) ή χωρίς προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης, 40 ημέρες μετά την παραγωγή (D+40)

Όσον αφορά στο γονίδιο INOS, ως προς την επεξεργασία του γάλακτος, παρατηρήθηκε ότι η επεξεργασία του γάλακτος με τις εναλλακτικές τεχνολογίες οδήγησε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις του γονιδίου. Ωστόσο, μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης των δειγμάτων, η συγκέντρωση του γονιδίου εμφάνισε μείωση, όταν το γάλα είχε υποστεί κάποια από τις μελετώμενες εναλλακτικές τεχνολογίες, μόνο στην περίπτωση του γάλακτος με προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης.

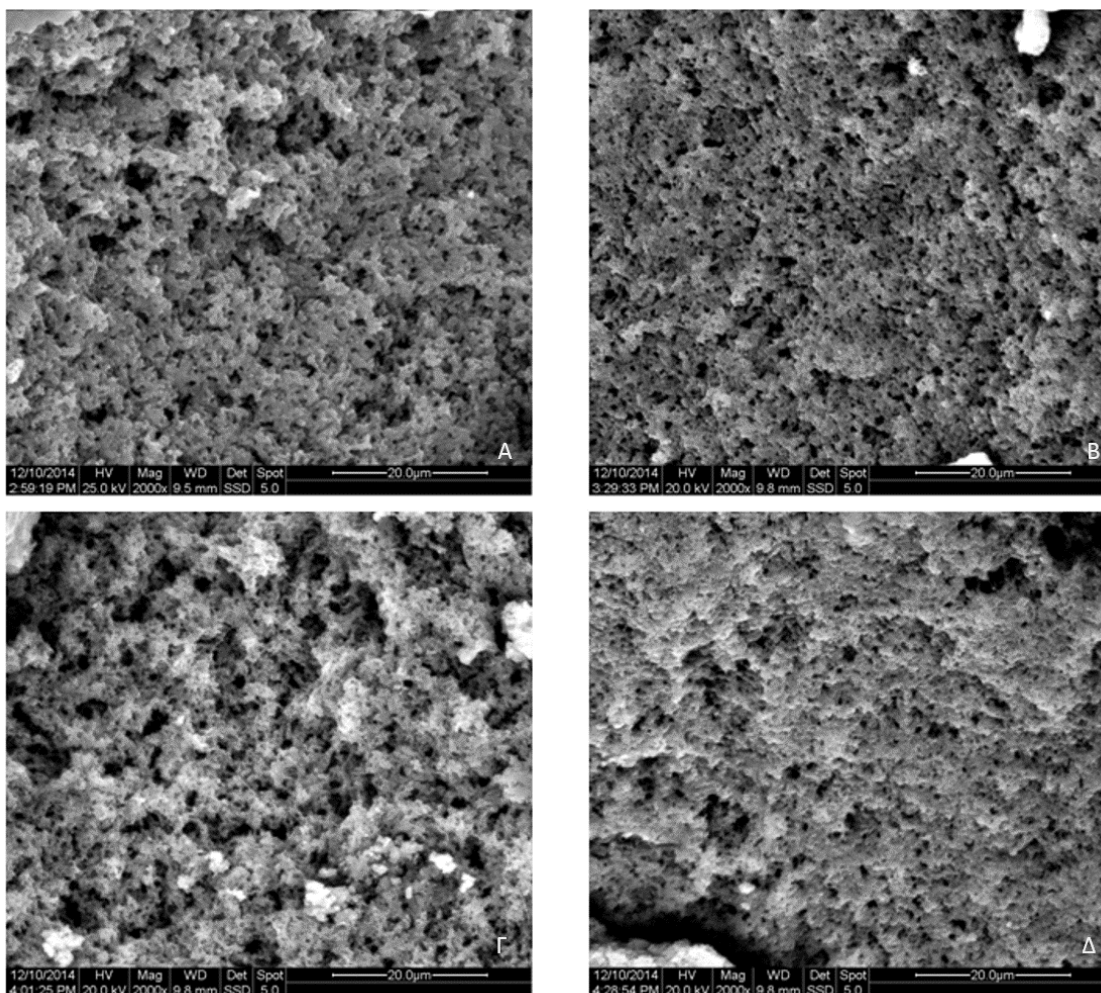
Στην περίπτωση του γονιδίου COX-2, η συγκέντρωσή του φάνηκε να επηρεάζεται μόνο στην περίπτωση των δειγμάτων με αυξημένο πρωτεϊνικό περιεχόμενο, όπου η επεξεργασία του γάλακτος με TGase (ανεξάρτητα από την προ-επεξεργασία του γάλακτος) φάνηκε να αυξάνει τη συγκέντρωση του γονιδίου αυτού αρχικά, σε σχέση με τα δείγματα των οποίων το γάλα είχε επεξεργαστεί μόνο θερμικά ή μόνο με ΥΠ. Στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης (40 ημέρες) παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση του COX-2 είτε παρέμεινε σταθερή ή μειώθηκε.

Γενικά, δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές, που να αναφέρονται στην επίδραση της επεξεργασίας του γάλακτος από τις μελετώμενες τεχνολογίες στις ανοσο-ρυθμιστικές ιδιότητες. Η προκαταρκτική αυτή μελέτη των αποτελεσμάτων οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η επεξεργασία του γάλακτος με κάποια από τις μελετώμενες εναλλακτικές τεχνολογίες ή με το συνδυασμό τους επέφερε μεταβολές στη συγκέντρωση τόσο των προφλεγμονωδών γονιδίων όσο και των αντιφλεγμονωδών γονιδίων.

6.1.8 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΔΟΜΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

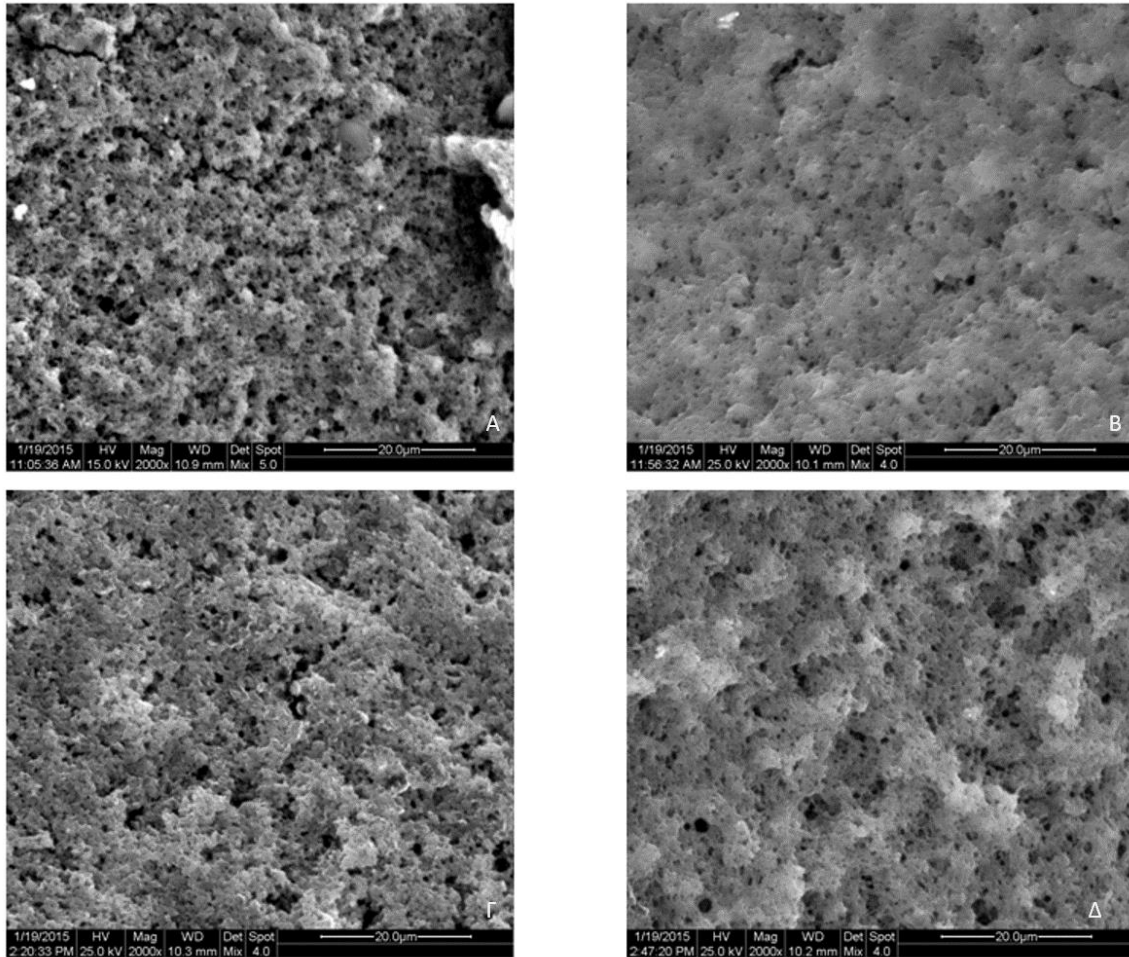
Οι μεταβολές των πρωτεϊνικών δικτύων των πηγμάτων λόγω των διαφορετικών εφαρμοζόμενων τεχνολογιών, παρατηρήθηκαν σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, και λήφθηκαν απεικονίσεις της μικροδομής των δειγμάτων σε μεγέθυνση x2.000. Στην **Εικόνα 6.3** παρουσιάζεται η μικροδομή του πήγματος με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά και 3,1% πρωτεϊνικό περιεχόμενο, ενώ στην **Εικόνα 6.4**, το αντίστοιχο πήγμα με 4,3% πρωτεϊνικό περιεχόμενο.

Συγκρίνοντας το πρωτεϊνικό δίκτυο των δειγμάτων των οποίων το γάλα είχε επεξεργαστεί ενζυμικά σε σχέση με αυτό των δειγμάτων που το γάλα τους είχε επεξεργαστεί θερμικά, παρατηρείται ότι εμφανίζεται πιο πυκνό, κάτι το οποίο σχετίζεται με πιο μικρό πορώδες και βελτιωμένη ισχύ του πρωτεϊνικού δικτύου (Lauber, Henle & Klostermeyer 2000, Farnsworth et al. 2006), κάτι που δεν ισχύει στον ίδιο βαθμό για τα δείγματα των οποίων το γάλα είχε επεξεργαστεί με ΥΠ. Ωστόσο, τα δείγματα των οποίων το γάλα είχε επεξεργαστεί με ΥΠ και κατόπιν ενζυμικά εμφάνισαν ακόμη πιο ισχυρά πρωτεϊνικά δίκτυα σε σχέση με τα υπόλοιπα εξεταζόμενα δείγματα, με περισσότερες συνεχείς διασυνδέσεις πρωτεϊνικών μορίων και λιγότερα κενά (απεικονίζονται ως μαύρες περιοχές στις εικόνες) συγκριτικά με τα δείγματα που το γάλα τους είχε επεξεργαστεί με κάθε μία από τις προτεινόμενες τεχνολογίες χωριστά (Tsendou et al. 2013a).



Εικόνα 6. 3 απεικονίσεις ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης σε μεγέθυνση $\times 2000$ δειγμάτων γιαουρτιού με 0% λιπαρά και 3,1% πρωτεϊνικό περιεχόμενο από (Α) γάλα θερμικά επεξεργασμένο, (Β) θερμικά και ακολούθως ενζυμικά, (Γ) επεξεργασμένο με ΥΠ και (Δ) επεξεργασμένο με ΥΠ και ακολούθως ενζυμικά (Δ).

Είναι εμφανές από τις **ΕΙΚΟΝΕΣ 6.3** και **6.4** πως η επεξεργασία με TGase στα δείγματα που προέρχονται από αγελαδινό γάλα με προσθήκη, οδηγεί στο πιο βελτιωμένο πρωτεϊνικό δίκτυο, σε σύγκριση τόσο με τα πήγματα που έχουν ίδια σύσταση, αλλά έχουν υποστεί διαφορετική επεξεργασία, αλλά και με τα αντίστοιχα πήγματα στο οποία δεν έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη. Έχει αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες, ότι, η επεξεργασία με TGase του γάλακτος στο οποίο έχει προστεθεί εξωγενής πηγή πρωτεΐνης μπορεί να οδηγήσει σε ένα βελτιωμένο πρωτεϊνικό δίκτυο στο τελικό πήγμα (Lorenzen et al. 2002).



Εικόνα 6. 4 Απεικονίσεις ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης σε μεγέθυνση $\times 2000$ δειγμάτων γιαουρτιού με 0% λιπαρά και 4,31% πρωτεϊνικό περιεχόμενο από (Α) γάλα θερμικά επεξεργασμένο, (Β) θερμικά και ακολούθως ενζυμικά, (Γ) επεξεργασμένο με ΥΠ και (Δ) επεξεργασμένο με ΥΠ και ακολούθως ενζυμικά (Δ).

6.1.9 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Για να μελετηθεί περαιτέρω η επίδραση των εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας και η σύσταση του γάλακτος στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στις βιο-λειτουργικές ιδιότητες των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, τα δεδομένα που προέκυψαν από την ανάλυση των δεδομένων της υφής, των φυσικοχημικών και βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων των δειγμάτων υποβλήθηκαν σε ανάλυση κύριων συνιστωσών, με τις δύο κύριες συνιστώσες να αντιπροσωπεύουν το 67,2% της ολικής διακύμανσης (βλ. **Διάγραμμα 6.15**). Σύμφωνα με τις τιμές του πίνακα συσχέτισης κύριων συνιστωσών και προσδιορισμένων μεταβλητών (βλ. Παράρτημα), επιλέχθηκε να παρουσιαστεί το διάγραμμα των κύριων συνιστωσών (ΚΣ) 1 (45,3%) και 2 (21,9%). Η πρώτη κύρια συνιστώσα (ΚΣ 1)

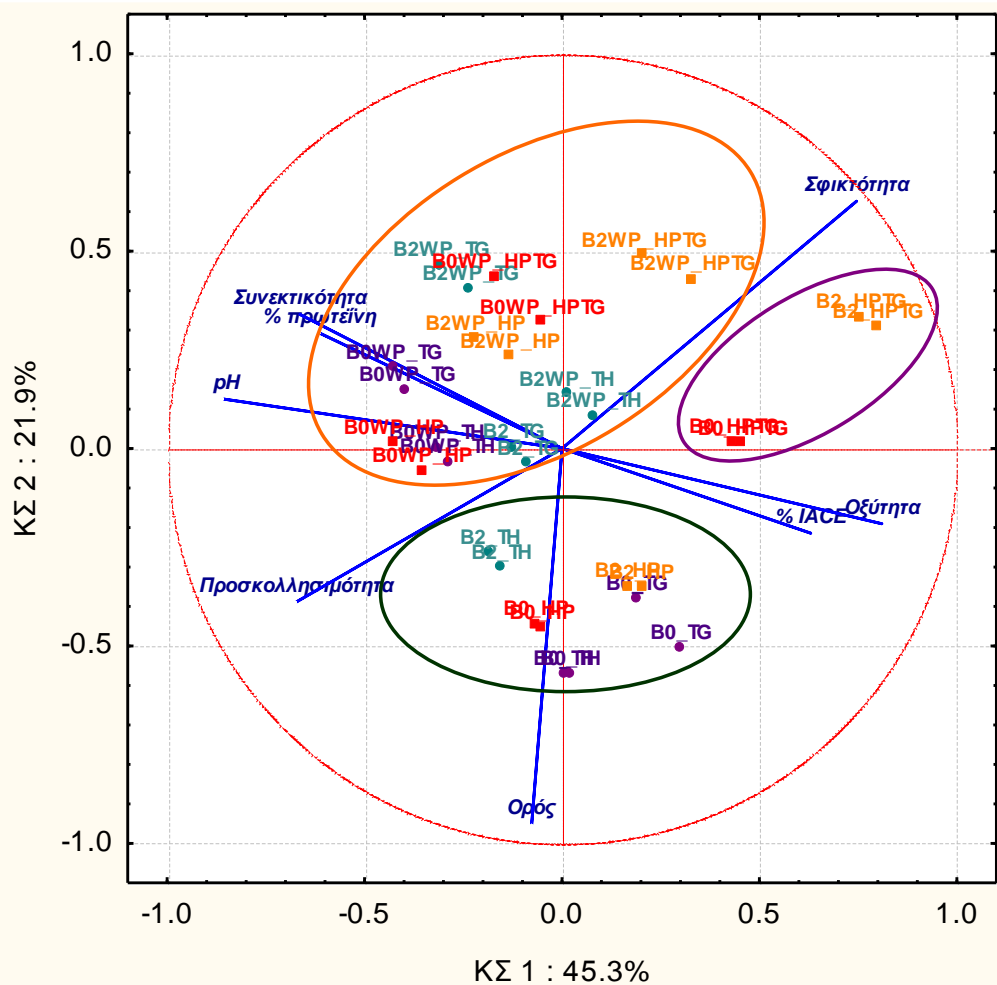
συσχετίστηκε έντονα θετικά την οξύτητα (% γαλακτικό οξύ) και την % ACE ανασταλτική δραστικότητα (% IACE), και θετικά με την παράμετρο της σφικτότητας των δειγμάτων, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την παράμετρο της συνεκτικότητας, της προσκολλησιμότητας, το pH και την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα (ΚΣ 2) συσχετίστηκε έντονα αρνητικά με το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού.

Στο **Διάγραμμα 6.15** παρατηρείται σημαντική διαφοροποίηση των δειγμάτων στα οποία έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης σε σχέση με αυτά στα οποία δεν έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη, όπως προκύπτει από την ομαδοποίηση των δειγμάτων. Γενικά παρατηρείται πως το πρωτεϊνικό περιεχόμενο επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό, τόσο το ποιοτικό, όσο και το βιο-λειτουργικό προφίλ των δειγμάτων. Αναφορικά με την αύξηση των λιπαρών στο χρησιμοποιούμενο γάλα, ανεξάρτητα από την εφαρμοζόμενη επεξεργασία, αυτή φαίνεται να δρα συνεργιστικά με την εκάστοτε εφαρμοζόμενη τεχνολογία στο γάλα, ως αποτέλεσμα της αύξησης των ολικών στερεών του γάλακτος.

Για τα δείγματα στα οποία δεν έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης, παρατηρείται πως το είδος της εφαρμοζόμενης τεχνολογίας στο γάλα (θερμική ή ΥΠ), επηρεάζει σε μικρό βαθμό, έως και καθόλου, το ποιοτικό προφίλ των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, με την ΥΠ να ευνοεί την αύξηση στο ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού. Ομοίως, τα δείγματα από γάλα που έχει επεξεργαστεί με TGase κατόπιν της θερμικής του επεξεργασίας δεν φαίνεται να διαφοροποιούνται από τις παραπάνω τεχνολογίες, ειδικά στην περίπτωση των δειγμάτων από γάλα με 0% λιπαρά. Στην περίπτωση των δειγμάτων από γάλα με 2% λιπαρά, παρατηρείται διαφοροποίηση, και συγκεκριμένα μείωση του φαινομένου της συναίρεσης, το οποίο οφείλεται στην αύξηση των ολικών στερεών στο γάλα. Η συνδυασμένη εφαρμογή των δύο μελετώμενων εναλλακτικών τεχνολογιών στο γάλα (επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ και στη συνέχεια επεξεργασία με TGase) φαίνεται να επιδρά σημαντικά στα χαρακτηριστικά των δειγμάτων, καθώς τα δείγματα αυτά διαφοροποιούνται σαφώς από εκείνα που παρασκευάστηκαν από γάλα επεξεργασμένο μεμονωμένα με κάποια από τις μελετώμενες τεχνολογίες, αφού εμφανίζουν σημαντικά αυξημένες τιμές σφικτότητας, μειωμένη συναίρεση και αυξημένη % ACE- ανασταλτική δράση. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι με το συνδυασμό των δύο τεχνολογιών παράγεται ένα προϊόν το οποίο συνδυάζει με τον καλύτερο τρόπο τα κύρια ποιοτικά χαρακτηριστικά με τα βιο-λειτουργικά. Έτσι, το αποτέλεσμα είναι ένα γιαούρτι τύπου σεντ με βελτιωμένη σφικτότητα, μειωμένο φαινόμενο συναίρεσης και που αποτελεί πλούσια πηγή πεπτιδίων που αναστέλλουν την δράση του ACE.

Στα δείγματα στα οποία έχει γίνει προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης παρατηρείται πως παρουσιάζουν παρόμοια χαρακτηριστικά, ανεξάρτητα από τη σύσταση του γάλακτος σε λιπαρά ή την εκάστοτε εφαρμοζόμενη τεχνολογία στο γάλα. Όλα τα δείγματα παρουσιάζουν αυξημένη συνεκτικότητα και μειωμένη συναίρεση λόγω της αύξησης των ολικών στερεών στο γάλα, καθώς και υψηλότερο pH και, όπως είναι αναμενόμενο, υψηλότερο πρωτεϊνικό περιεχόμενο. Η αύξηση αυτή φαίνεται να είναι πιο έντονη για τα δείγματα που έχουν και αυξημένη λιποπεριεκτικότητα, η οποία όπως φάνηκε και προηγουμένως φαίνεται να δρα συνεργιστικά με την εκάστοτε επεξεργασία. Αξίζει να σημειωθεί ότι για τα δείγματα στα οποία έχει γίνει προσθήκη εξωγενούς

πρωτεΐνης, εκείνα που διαφοροποιούνται, κυρίως ως προς τη σφικτότητά τους, είναι τα δείγματα από γάλα με 2% λιπαρά, το οποίο έχει υποστεί συνδυαστική επεξεργασία με ΥΠ και TGase. Τέλος, τα δείγματα από γάλα με 0% λιπαρά που έχει επεξεργαστεί είτε θερμικά είτε με ΥΠ, φαίνεται να παρουσιάζουν αυξημένες τιμές προσκολλησιμότητας, το οποίο σύμφωνα με βιβλιογραφικές πηγές φαίνεται να σχετίζεται οργανοληπτικά με εντονότερη κρεμμώδη υφή.



Διάγραμμα 6. 15 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ) για τη μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας και της σύστασης του αγελαδινού γάλακτος στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Η ονομασία των δειγμάτων έχει ως εξής: B: Αγελαδινό γάλα, 0 ή 2: % περιεκτικότητα σε λιπαρά, WP: Δείγματα στα οποία έχει πραγματοποιηθεί προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης στο γάλα, TH: Θερμική επεξεργασία γάλακτος, HP: επεξεργασία γάλακτος με ΥΠ, TG: επεξεργασία του γάλακτος με το ένζυμο TGase, HPTG: επεξεργασία γάλακτος με ΥΠ και στη συνέχεια με TGase)

6.2 ΓΙΑΟΥΡΤΙ ΤΥΠΟΥ ΣΕΤ ΑΠΟ ΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ

Στο συγκεκριμένη παράγραφο, θα γίνει παρουσίαση των αποτελεσμάτων σχετικά με την επίδραση της εφαρμογής της ΥΠ και της ενζυμικής επεξεργασίας του πρόβειου γάλακτος στην κινητική της ζύμωσης, στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στα βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού τύπου σετ, πάλι 3 ημέρες μετά την παραγωγή του πήγματος αλλά και 40 ημέρες μετά την αποθήκευση).

6.2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ

Στον **Πίνακα 6.5** παρουσιάζονται οι κινητικές παράμετροι και οι χρόνοι ζύμωσης για τα πρόβεια όξινα πήγματα διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά και διαφορετικά επεξεργασμένου γάλακτος. Η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ οδήγησε σε αυξημένο μέγιστο ρυθμό οξίνισης αλλά και λανθάνουσα φάση σε σχέση με το γάλα που είχε επεξεργαστεί θερμικά. Ωστόσο ο συνολικός χρόνος ζύμωσης ήταν ο μικρότερος. Αντίθετα, η επεξεργασία με TGase οδήγησε σε μικρότερο ρυθμό οξίνισης και μικρότερη λανθάνουσα φάση, αλλά ο συνολικός χρόνος ζύμωσης του προϊόντος ήταν μεγαλύτερος σε σχέση με το γάλα που είχε υποστεί επεξεργασία με ΥΠ. Όταν το γάλα επεξεργάστηκε αρχικά με ΥΠ και στη συνέχεια με TGase, οδήγησε σε σημαντική ($p < 0,001$) μείωση της λανθάνουσας φάσης.

Πίνακας 6. 5 Κινητικές παράμετροι (λ , μ) και χρόνος ζύμωσης (min) πρόβειων όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ	ΛΑΝΘΑΝΟΥΣΑ ΦΑΣΗ λ (min)	ΜΕΓΙΣΤΟΣ ΡΥΘΜΟΣ ΟΞΙΝΙΣΗΣ μ (pH/ min)	R ²	ΧΡΟΝΟΣ ΖΥΜΩΣΗΣ (min)
Οv0				
CNT	96,5 ^c ($\pm 2,1$)	0,0132 ^a ($\pm 0,0003$)	0,992	300 ^e (± 10)
TG	101 ^d ($\pm 0,8$)	0,0140 ^b ($\pm 0,0003$)	0,992	270 ^d (± 5)
HP	105 ^e ($\pm 0,9$)	0,0170 ^f ($\pm 0,0001$)	0,997	220 ^b (± 0)
HPTG	88,4 ^a ($\pm 1,7$)	0,0161 ^e ($\pm 0,0001$)	0,998	210 ^a (± 5)
Οv2				
CNT	93,2 ^b ($\pm 1,2$)	0,0151 ^d ($\pm 0,0002$)	0,992	260 ^d (± 5)
TG	93,3 ^b ($\pm 0,1$)	0,0147 ^c ($\pm 0,0001$)	0,995	240 ^{vc} (± 0)
HP	103 ^{de} ($\pm 0,2$)	0,0196 ^h ($\pm 0,0001$)	0,997	210 ^a (± 0)
HPTG	88,1 ^a ($\pm 1,0$)	0,0178 ^g ($\pm 0,0001$)	0,998	210 ^a (± 5)

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω κατά τη λανθάνουσα φάση παράγονται τα απαραίτητα πρωτεολυτικά ένζυμα από τη δράση του *L. bulgaricus*, τα οποία απελευθερώνουν τα αμινοξέα που ενεργοποιούν τη δράση του *S. thermophilus* (Tamime & Robinson 2007). Παλιότερες έρευνες (Tsendou et al. 2013a, b, Bönisch et al. 2007, Lorenzen et al. 2002) έχουν δείξει πως η επεξεργασία του γάλακτος με TGase επιμηκύνει τόσο τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης, όσο και τη διάρκεια της ζύμωσης. Η επίμυκνση της λανθάνουσας φάσης λόγω της επεξεργασίας του γάλακτος με TGase μάλλον οφείλεται στο γεγονός, ότι η ενζυμική επεξεργασία μειώνει την διαθεσιμότητα των πρωτεϊνών που προκαλούν την πρωτεολυτική δράση του *L. bulgaricus* (Tsendou et al. 2013b). Ενώ η επεξεργασία με ΥΠ διαλυτοποιεί τα καζεϊνικά μικύλλια και απελευθερώνει αμινοξέα, τα οποία με τη σειρά τους ευνοούν την προσαρμογή των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης στο γάλα, και έτσι μειώνεται η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης (Huppertz et al. 2006).

6.2.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ

Στον **Πίνακα 6.6** παρουσιάζεται το φορτίο των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης (*Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*), στα όξινα πηγμάτα διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά και για διαφορετικά επεξεργασμένο γάλα, όπως μετρήθηκε 3 ημέρες μετά την παρασκευή των δειγμάτων. Το συνολικό φορτίο ήταν εντός των νομοθετικών ορίων, που ορίζουν ως κατώτατο όριο τους 7,0 log₁₀CFU/g (Codex Alimentarius 2011). Ανάμεσα στα δύο στελέχη της καλλιέργειας εκκίνησης, μόνο ο *L. bulgaricus* φάνηκε να επηρεάζεται από την εφαρμοζόμενη επεξεργασία του γάλακτος ($p < 0,01$), εμφανίζοντας υψηλότερο μικροβιακό φορτίο στα δείγματα που είχαν παρασκευαστεί από ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα (σ.μ.ο: 6,02 log₁₀CFU/g), σε σχέση με τα δείγματα των οποίων το γάλα που είχε υποστεί θερμική επεξεργασία, και εμφάνισαν το χαμηλότερο μικροβιακό φορτίο (σ.μ.ο: 4,93 log₁₀CFU/g).

Πίνακας 6. 6 Μικροβιακό φορτίο (log₁₀CFU/g) Καλλιέργειας εκκίνησης πρόβειων όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	<i>Str. thermophilus</i>		<i>L. bulgaricus</i>	
	% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ			
	0n0	0n2	0n0	0n2
CNT	9,23 ^{bc} (±0,04)	4,81 ^a (±0,02)	4,81 ^a (±0,02)	5,06 ^b (±0,07)
TG	8,95 ^a (±0,06)	6,12 ^e (±0,05)	6,12 ^e (±0,05)	5,94 ^d (±0,04)
HP	9,31 ^c (±0,06)	5,91 ^d (±0,00)	5,91 ^d (±0,00)	5,35 ^c (±0,03)
HPTG	9,19 ^{bc} (±0,06)	6,21 ^f (±0,05)	6,21 ^f (±0,05)	5,12 ^b (±0,06)

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Αξίζει να σημειωθεί πως στα δείγματα από πρόβειο γάλα που είχε υποστεί επεξεργασία με TGase, ο μικροοργανισμός *L. bulgaricus*, παρουσίασε υψηλότερο μικροβιακό φορτίο σε σχέση με τα δείγματα από αγελαδινό γάλα, το οποίο είχε επεξεργαστεί με TGase. Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα πως το περιβάλλον του πρόβειου γάλακτος είναι καταλληλότερο για την ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε σχέση με αυτό του αγελαδινού.

6.2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

6.2.3.1 ΤΙΤΛΟΔΟΤΟΥΜΕΝΗ ΟΞΥΤΗΤΑ ΚΑΙ ΡΗ

Οι μεταβολές στην τιμή του pH αλλά και της τιτλοδοτούμενης οξύτητας (Τ.Ο.), εκφρασμένης ως % γαλακτικό οξύ, ανάλογα με την επεξεργασία και την μεταβολή της περιεκτικότητας σε λιπαρά παρουσιάζονται στον **Πίνακα 6.7**.

Η διαδικασία της ζύμωσης διακόπηκε για τιμή pH 4,75, και μετά από 3 ημέρες η τιμή pH των δειγμάτων ήταν 4,53-4,37. Η μείωση αυτή οφείλεται στη συνεχιζόμενη δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων κατά την ψύξη των όξινων πηγμάτων μετά το τέλος της ζύμωσή και μέχρι η θερμοκρασία να φτάσει τους 4°C. Στα δείγματα από πρόβειο γάλα με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά, παρατηρήθηκε πως η επεξεργασία του γάλακτος με TGase, είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με ΥΠ, οδήγησε σε μικρότερη μείωση του pH, που σημαίνει πως η ενζυμική τροποποίηση των πρωτεϊνών του γάλακτος, έδρασε ανασταλτικά, για την περαιτέρω δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων, και το φαινόμενο της μετα-οξίνισης του προϊόντος μετά το πέρας των 3 ημερών. Όσον αφορά στα δείγματα από γάλα με 2% λιπαρά, μόνο στη περίπτωση επεξεργασίας του γάλακτος με TGase (μεμονωμένη επεξεργασία), παρατηρήθηκε το ίδιο φαινόμενο. Οι υπόλοιπες επεξεργασίες οδήγησαν σε σημαντική ($p < 0,001$) μείωση του pH.

Πίνακας 6. 7 Μεταβολή της οξύτητας πρόβειων όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	pH		% Γαλακτικό οξύ	
	% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ			
	0n0	0n2	0n0	0n2
CNT	4,41 ^a (±0,00)	4,42 ^a (±0,02)	0,83 ^b (±0,03)	0,82 ^b (±0,08)
TG	4,52 ^{bc} (±0,01)	4,54 ^c (±0,02)	0,67 ^a (±0,01)	0,62 ^a (±0,08)
HP	4,48 ^b (±0,00)	4,40 ^a (±0,01)	0,80 ^b (±0,02)	0,86 ^b (±0,06)
HPTG	4,53 ^{bc} (±0,05)	4,37 ^a (±0,05)	0,66 ^a (±0,05)	0,88 ^b (±0,01)

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

Όπως ήταν αναμενόμενο η αποθήκευση των δειγμάτων μετά από 40 ημέρες επέφερε περαιτέρω πτώση στην τιμή του pH. Η μικρότερη μεταβολή παρατηρήθηκε στα δείγματα των οποίων το γάλα είχε υποστεί επεξεργασία με ΥΠ (1,3% μείωση του σ.μ.ο.), ενώ τη μεγαλύτερη μεταβολή παρουσίασαν τα δείγματα από γάλα που είχε υποστεί ενζυμική επεξεργασία (5,4% πτώση του σ.μ.ο.).

Η τιμή της τιτλοδοτούμενης οξύτητας του γάλακτος μετά από 3 ημέρες από την παραγωγή των ζυμωμένων προϊόντων κυμάνθηκε σε τιμές 0,62-0,88%. Στα δείγματα από πρόβειο γάλα με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά, παρατηρήθηκε πως η επεξεργασία του γάλακτος με TGase, είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με ΥΠ, οδήγησε σε μικρότερη παραγωγή γαλακτικού οξέος, σε σχέση με τα δείγματα των οποίων το γάλα είχε επεξεργαστεί θερμικά ή με ΥΠ. Στην περίπτωση, του γάλακτος με 2% λιπαρά, μόνο στη περίπτωση μεμονωμένης επεξεργασίας του γάλακτος με TGase, παρατηρήθηκε παρόμοιο ποσοστό γαλακτικού οξέος. Οι υπόλοιπες επεξεργασίες οδήγησαν σε σημαντική ($p < 0,001$) αύξηση της παραγωγής του γαλακτικού οξέος.

Ομοίως με το pH, έτσι και η τιμή της οξύτητας μεταβλήθηκε μετά από αποθήκευση των δειγμάτων για 40 ημέρες. Η μικρότερη μεταβολή παρατηρήθηκε στα δείγματα των οποίων το γάλα είχε υποστεί επεξεργασία με ΥΠ (4,2% αύξηση του σ.μ.ο.), ενώ τη μεγαλύτερη μεταβολή παρουσίασαν τα δείγματα από γάλα που είχε υποστεί ενζυμική επεξεργασία (35,7% αύξηση σ.μ.ο.).

6.2.3.2 ΧΡΩΜΑ

Και σε αυτή την περίπτωση δεν παρατηρήθηκε μείωση στο ολικό χρώμα κατά την επεξεργασία της ΥΠ, όπως αναφέρεται βιβλιογραφικά από τους Chawla et al. (2011). Η τιμή του ολικού χρώματος του γιαουρτιού παρέμεινε σταθερή ($86,9 \pm 0,9$) ανεξάρτητα από την επεξεργασία που είχε υποστεί το γάλα και την αύξηση στην περιεκτικότητά του σε λιπαρά.

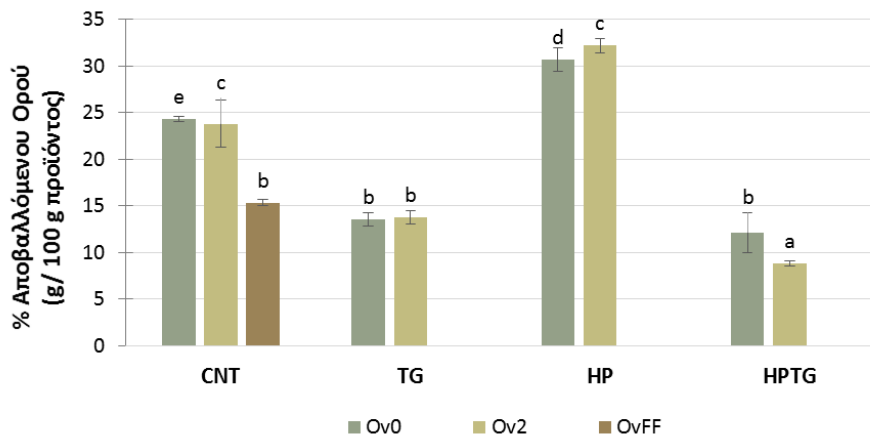
6.2.3.3 ΣΥΝΑΙΡΕΣΗ

Στο **Διάγραμμα 6.16** παρουσιάζεται το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού (g/ 100 g προϊόντος) από τα παραγόμενα πήγματα 3 ημέρες μετά από την παραγωγή τους, και το πώς αυτό επηρεάστηκε από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας, την περιεκτικότητα σε λιπαρά και σε πρωτεΐνη.

Το φαινόμενο της αποβολής του ορού δεν επηρεάστηκε σημαντικά από όλες τις παραμέτρους του πειράματος. Αρχικά, η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ οδήγησε σε υψηλότερο ποσοστό αποβολής ορού (σ.μ.ο.: 31,4%) σε σχέση με την θερμική επεξεργασία (σ.μ.ο.: 22,3 %). Από την άλλη, η ενζυμική επεξεργασία μείωσε το ποσοστό της συναίρεσης (σ.μ.ο.: 13,6%) σε σχέση με αυτή των δειγμάτων από θερμικά επεξεργασμένο γάλα, και τέλος, η εφαρμογή του συνδυασμού των εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας του γάλακτος είχε ως αποτέλεσμα το χαμηλότερο ποσοστό αποβολής ορού (σ.μ.ο.: 10,5%). Συγκρίνοντας τον βαθμό συναίρεσης των δειγμάτων από

πρόβειο γάλα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, με δείγμα από πρόβειο γάλα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 5,4%, παρατηρείται πως η αύξηση των λιπαρών οδηγεί σε μικρότερο ποσοστό αποβαλλόμενου ορού, λόγω της αύξησης της σύστασης του δείγματος σε ολικά στερεά.

Αντίθετα με τη μέθοδο επεξεργασίας, η σύσταση του γάλακτος σε λιπαρά, δεν είχε σημαντική επίδραση στο ποσοστό αποβαλλόμενου ορού, όπως επίσης δεν ήταν στατιστικά σημαντική και η μεταβολή της ποσότητας του ορού που αποβάλλεται από τα δείγματα μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης.



Διάγραμμα 6. 16 Μεταβολή του % ποσοστού αποβολής ορού πρόβειων όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά συναρτήσει της επεξεργασίας του γάλακτος (Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=6$)).

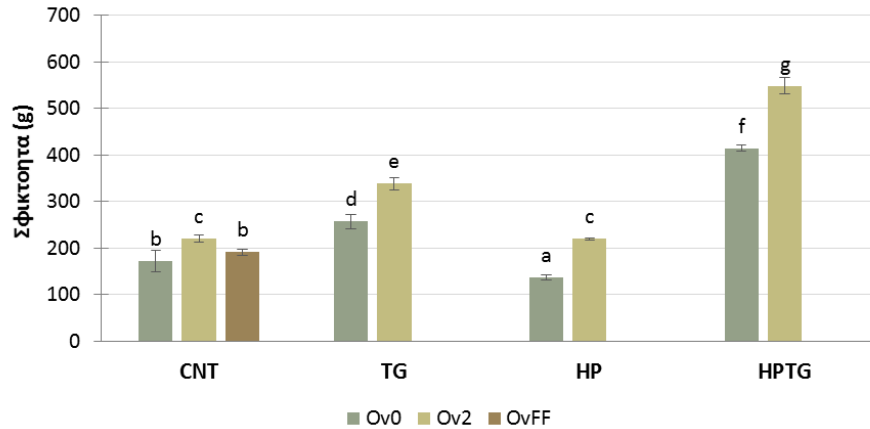
6.2.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΦΗΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Στο **Διάγραμμα 6.17** παρουσιάζονται οι τιμές σφικτότητας από τα παραγόμενα πήγματα 3 ημέρες μετά από την παραγωγή τους, και το πώς αυτά επηρεάστηκαν από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας και την περιεκτικότητα σε λιπαρά, και στο **Διάγραμμα 6.18** παρουσιάζονται οι τιμές σφικτότητας των πηγμάτων μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης στους 4°C.

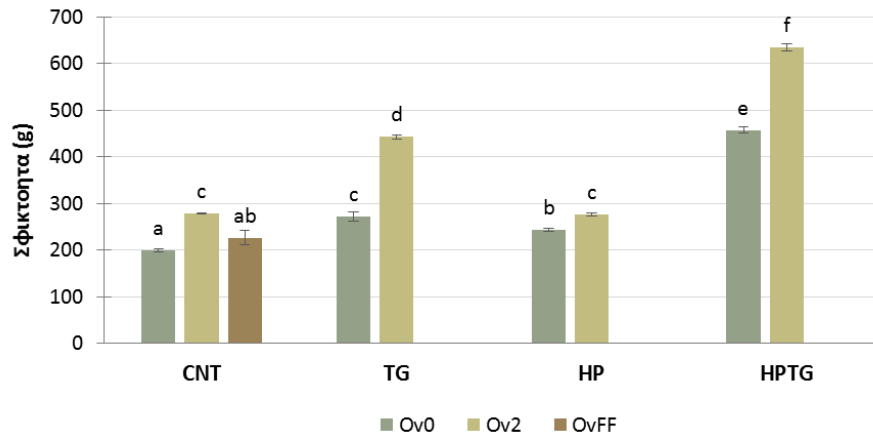
Η σφικτότητα των πηγμάτων αυξήθηκε, με την αύξηση της λιποπεριεκτικότητας, η οποία επηρέασε σημαντικά ($p<0,001$) την ιδιότητα αυτή. Όσον αφορά στη μέθοδο επεξεργασίας του γάλακτος, η επεξεργασία με TGase, είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με ΥΠ, αύξησε την τιμή της σφικτότητας, ενώ η εφαρμογή μεμονωμένης της επεξεργασίας της ΥΠ στο γάλα, δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές στο πήγμα. Ομοίως με την περίπτωση των δειγμάτων από αγελαδινό γάλα, η εφαρμογή της ΥΠ δεν βελτίωσε της ιδιότητες υφής του πηγματος. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η α -La είναι αρκετά ανθεκτική υπό συνθήκες ΥΠ και μόνο η β -Lg μπορεί να μετουσιωθεί, κάτι που υποδηλώνει την ανάγκη για μία επακόλουθη θερμική επεξεργασία του γάλακτος (85°C/ 20-30 min), προκειμένου να παραχθεί ένα προϊόν με βελτιωμένη δομή (Harte et al. 2003). Και στην περίπτωση αυτή επιβεβαιώνεται το γεγονός ότι η συνεργιστική δράση των δύο εναλλακτικών τεχνολογιών που

χρησιμοποιήθηκαν οδήγησαν σε προϊόν με βελτιωμένη υφή. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί πως το πήγμα από γάλα με περιεκτικότητα 5,4% σε λιπαρά που είχε υποστεί μόνο θερμική επεξεργασία, δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές στην τιμή της σφικτότητας, σε σχέση με τα δείγματα από γάλα με 0% λιπαρά που είχε επεξεργαστεί με τον ίδιο τρόπο.

Στα δείγματα αυτά μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης υπό συνθήκες ψύξης παρατηρείται σημαντική ($p < 0,001$) αύξηση στις τιμές της παραμέτρου αυτής, κάτι που συνοδεύεται και με την αντίστοιχη μείωση στον αποβαλλόμενο ορό.



Διάγραμμα 6.17 Αρχικές τιμές (3 ημέρες) σφικτότητας πρόβειων όξιων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά συναρτήσει της επεξεργασίας του γάλακτος (Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=6$)).



Διάγραμμα 6.18 Μεταβολή της σφικτότητας πρόβειων όξιων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά συναρτήσει της επεξεργασίας του γάλακτος (Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=6$)).

Στον Πίνακα 6.8 παρουσιάζονται οι παράμετροι της προσκολλησιμότητας και της συνεκτικότητας των πρόβειων όξιων πηγμάτων. Όσον αφορά στην παράμετρο της προσκολλησιμότητας, οι σχεδιαστικές παράμετροι επέφεραν σημαντικές ($p < 0,001$) διαφορές στις

τιμές της. Η ενζυμική επεξεργασία στο γάλα οδήγησε στην χαμηλότερη τιμή προσκολλησιμότητας στα δείγματα, ενώ η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη τιμή προσκολλησιμότητας σε σχέση με την εφαρμογή θερμικής επεξεργασίας στο γάλα. Ο συνδυασμός των δύο εναλλακτικών τεχνολογιών για την επεξεργασία του γάλακτος, οδήγησε σε υψηλότερη τιμή προσκολλησιμότητας από τα δείγματα των οποίων το γάλα είχε υποστεί επεξεργασία με TGase, ωστόσο η τιμή αυτή ήταν χαμηλότερη από τα δείγματα τα οποία είχαν προέλθει από γάλα επεξεργασμένο είτε θερμικά είτε με ΥΠ. Τα δείγματα με αυξημένα λιπαρά (2%) παρουσίασαν υψηλότερες τιμές προσκολλησιμότητας σε σχέση με τα δείγματα από άπαχο πρόβειο γάλα. Μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης των δειγμάτων, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στην προσκολλησιμότητα των μελετώμενων δειγμάτων.

Πίνακας 6. 8 Χαρακτηριστικά υφής των πρόβειων όξινων πηγμάτων διαφορετικής περιεκτικότητας σε λιπαρά

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	Προσκολλησιμότητα (g-s)		Συνεκτικότητα	
	% ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΛΙΠΑΡΑ			
	Οv0	Οv2	Οv0	Οv2
CNT	-97,8 ^c (±10)	-152 ^a (±3,7)	0,52 ^a (±0,03)	0,51 ^a (±0,02)
TG	-52,9 ^e (±0,1)	-80,1 ^d (±0,4)	0,63 ^d (±0,01)	0,60 ^{cd} (±0,01)
HP	-103 ^c (±4,9)	-96,1 ^c (±2,3)	0,52 ^{ab} (±0,00)	0,55 ^b (±0,00)
HPTG	-80,0 ^{bc} (±8,0)	-94,3 ^c (±0,2)	0,60 ^e (±0,01)	0,62 ^{cd} (±0,01)

Οι τιμές είναι μέσοι όροι δύο μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων (n=6). Τα διαφορετικά γράμματα μεταξύ των γραμμών δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) μεταξύ των εξεταζόμενων δειγμάτων με βάση τη δοκιμή σύγκρισης μέσων όρων του Duncan (Duncan's mean values post hoc comparison test).

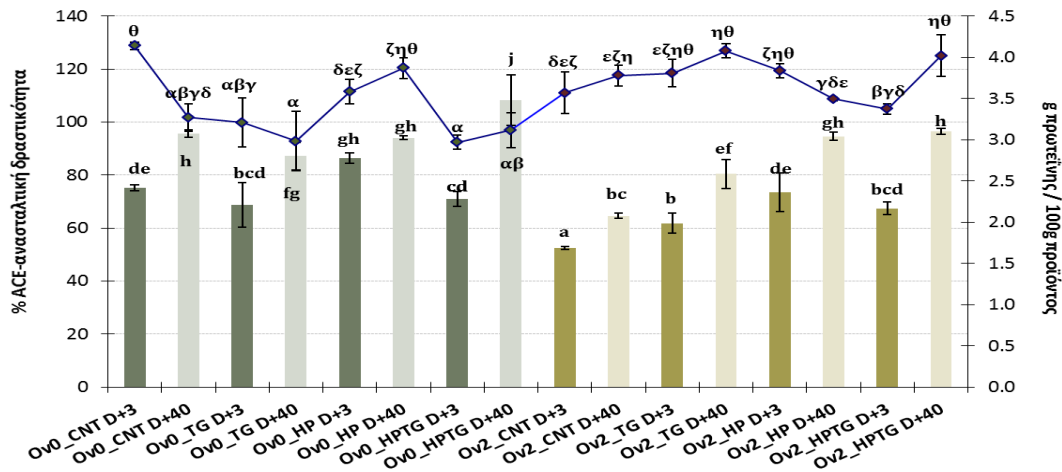
Όσον αφορά την συνεκτικότητα των δειγμάτων, η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος, είτε όταν εφαρμόστηκε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με ΥΠ, είχε ως αποτέλεσμα σημαντικά ($p < 0,001$) μεγαλύτερες τιμές συνεκτικότητας, σε σχέση με τα δείγματα που είχαν προέλθει από γάλα που είχε υποστεί είτε θερμική είτε επεξεργασία με ΥΠ. Ωστόσο, η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε λιπαρά, δεν επέφερε σημαντικές αλλαγές στις τιμές της συνεκτικότητας. Τέλος, μετά από αποθήκευση των δειγμάτων για 40 ημέρες, η τιμή της συνεκτικότητας μειώθηκε σημαντικά ($p < 0,01$) περίπου κατά 5%. . Ο δείκτης ελαστικότητας παρέμεινε σταθερός ($0,94 \pm 0,02$) για όλα τα δείγματα από πρόβειο γάλα, και δεν επηρεάστηκε από καμία παράμετρο του πειράματος.

6.2.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ANTI-ΥΠΕΡΤΑΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Στο **Διάγραμμα 6.19** παρουσιάζονται οι μετρήσεις της % ACE-ανασταλτικής δραστηριότητας (ράβδοι) και το πρωτεϊνικό περιεχόμενο (γραμμή), από τα όξινα πηγμάτα πρόβειου γάλακτος 0%

και 2% περιεκτικότητας σε λιπαρά, και το πώς επηρεάστηκαν από τις εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας και το χρόνο αποθήκευσης.

Η % ACE-ανασταλτική δραστηριότητα επηρεάστηκε σημαντικά ($p < 0,001$) μόνο από την επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ, είτε όταν αυτή εφαρμόστηκε μεμονωμένα είτε με συνεπακόλουθη ενζυμική επεξεργασία. Αντίθετα, η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος, δεν επέφερε μεταβολή στην αντι-υπερτασική δράση των δειγμάτων σε σχέση με την απλή θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Επιπρόσθετα, τα δείγματα με 0% περιεκτικότητα σε λιπαρά παρουσίασαν σημαντικά ($p < 0,001$) πιο ενισχυμένη αντι-υπερτασική δράση σε σχέση με δείγματα χαμηλών λιπαρών (2%).



Διάγραμμα 6. 19 ACE- ανασταλτική δραστηριότητα για τα πρόβεια όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα 0% και 2% σε λιπαρά σε αρχικό χρόνο (3 ημέρες μετά την παραγωγή, D+3), και τελικό χρόνο (μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης, D+40)

(Οι τιμές είναι μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων και τριών ανεξάρτητων πειραμάτων ($n=9$)).

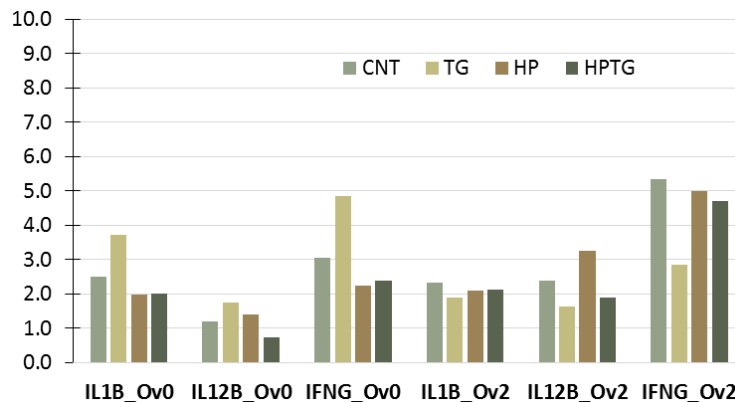
Ιδιαίτερα σημαντική ($p < 0,001$) ήταν και η αύξηση της % ACE-ανασταλτικής δραστηριότητας μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης των προϊόντων (σ.μ.ο: από 70% στις 3 ημέρες στο 90% μετά από 40 ημέρες). Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των δειγμάτων από πρόβειο γάλα παρατηρείται αυξημένο σε σχέση με το αγελαδινό, διότι αρχικά έχει περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες πάνω από 5%. Και εδώ, τα δείγματα των οποίων το γάλα έχει επεξεργαστεί με TGase εμφάνισαν μειωμένο πρωτεϊνικό περιεχόμενο, σε σχέση με τα δείγματα που το γάλα έχει υποστεί επεξεργασία είτε θερμική είτε με ΥΠ.

Ομοίως με την περίπτωση των δειγμάτων από αγελαδινό γάλα, η βιωσιμότητα του μικροοργανισμού *L. bulgaricus* της καλλιέργειας εκκίνησης, φάνηκε να επηρεάζει την αντι-υπερτασική δράση των δειγμάτων. Επιπλέον, το ποσοστό της %ACE ανασταλτικής δράσης του δείγματος αναφοράς φάνηκε να συμφωνεί με τα όρια που τέθηκαν στη περίπτωση των δειγμάτων του αγελαδινού γάλακτος στην περίπτωση των δειγμάτων από γάλα με 0% λιπαρά.

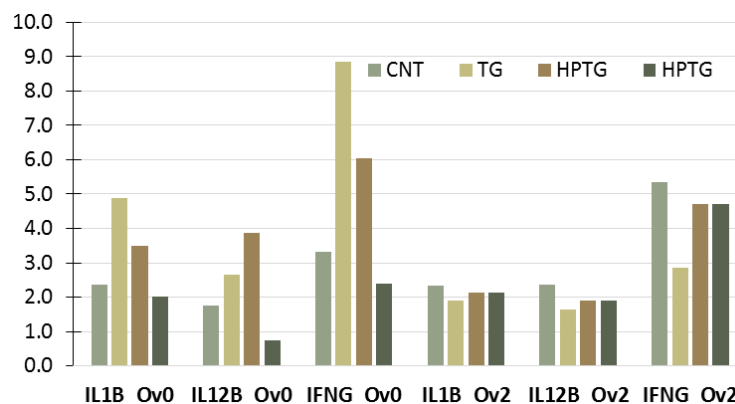
6.2.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΙΣ ΑΝΟΣΟ-ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται κάποιες προκαταρκτικές μετρήσεις για τα δείγματα από πρόβειο γάλα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2% και σχολιάζονται επιγραμματικά κάποιες τάσεις που παρατηρήθηκαν, όσον αφορά στη συγκέντρωση των γονιδίων στα οποία οφείλεται η ανοσορυθμιστική δράση. Τα γονίδια που προσδιορίστηκαν χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα προφλεγμονώδη (IL1B, IL12B, IFNG) και τα αντιφλεγμονώδη (IL1O, IL1RN, TGFB). Επιπλέον, προσδιορίστηκαν και τα γονίδια INOS και COX-2, τα οποία δεν εντάσσονται πλήρως σε κάποια από τις παραπάνω κατηγορίες, αλλά το πρώτο παρουσιάζει χαρακτηριστικά προφλεγμονώδους, ενώ το δεύτερο παρουσιάζει χαρακτηριστικά αντιφλεγμονώδους γονιδίου.

Στα **Διαγράμματα 6.20** και **6.21** απεικονίζεται η συγκέντρωση των προφλεγμονωδών γονιδίων των δειγμάτων από πρόβειο γάλα από πρόβεια μονοκύτταρα.



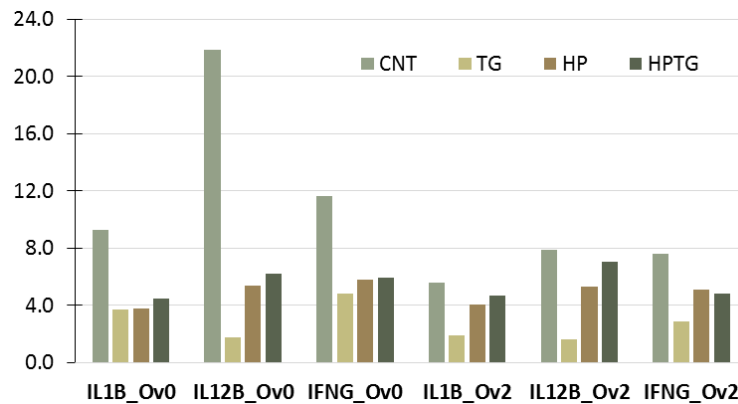
Διάγραμμα 6. 20 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των προφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια μονοκύτταρα για τα πρόβεια όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 3 ημέρες μετά την παραγωγή (D+3)



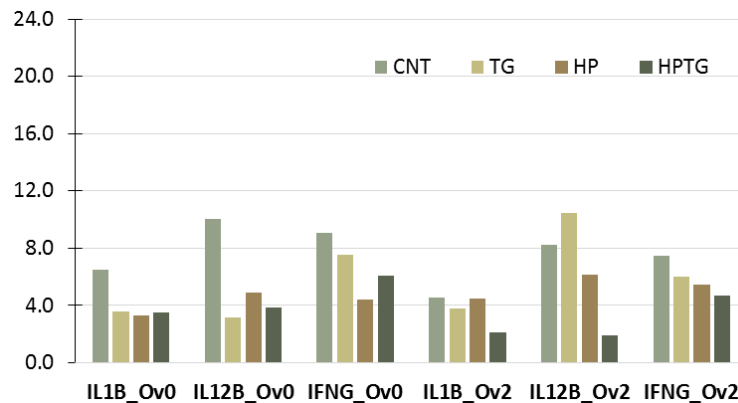
Διάγραμμα 6. 21 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των προφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια μονοκύτταρα για τα πρόβεια όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 40 ημέρες μετά την παραγωγή (D+40)

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω διαγράμματα ως προς την επεξεργασία, παρατηρείται πως η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος αυξάνει τη συγκέντρωση των γονιδίων στην περίπτωση των δειγμάτων με 0% λιπαρά, ενώ η αύξηση της λιποπεριεκτικότητας φαίνεται να μειώνει τη συγκέντρωσή τους για την συγκεκριμένη επεξεργασία του γάλακτος. Στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης, τα δείγματα που το γάλα τους είχε επεξεργαστεί με το συνδυασμό των δύο μελετώμενων τεχνολογιών εμφάνισαν σταθερή ή μειωμένη συγκέντρωση προφλεγμονωδών γονιδίων.

Στα **Διαγράμματα 6.22** και **6.23** απεικονίζεται η δράση των προφλεγμονωδών γονιδίων των δειγμάτων από πρόβειο γάλα από πρόβεια ουδετερόφιλα κύτταρα. Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση των προφλεγμονωδών γονιδίων φαίνεται να επηρεάζεται από την εφαρμογή των εναλλακτικών τεχνολογιών στο γάλα, αφού μειώνεται αρκετά σε σχέση με το δείγμα αναφοράς. Η ίδια τάση παρατηρείται τόσο αρχικά όσο και μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης των όξινων πηγμάτων.

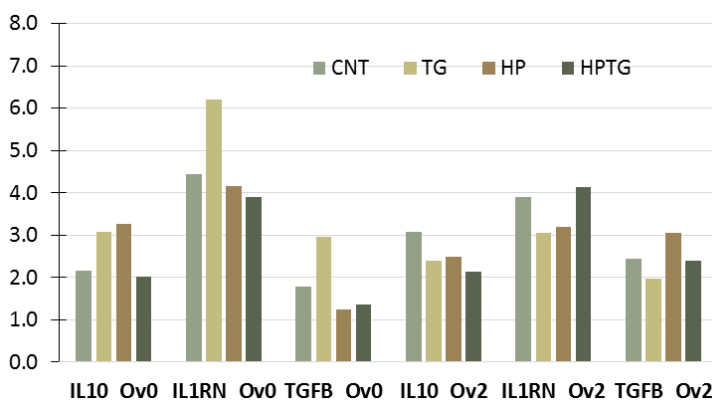


Διάγραμμα 6. 22 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των προφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια ουδετερόφιλα κύτταρα για τα πρόβεια όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 3 ημέρες μετά την παραγωγή (D+3)

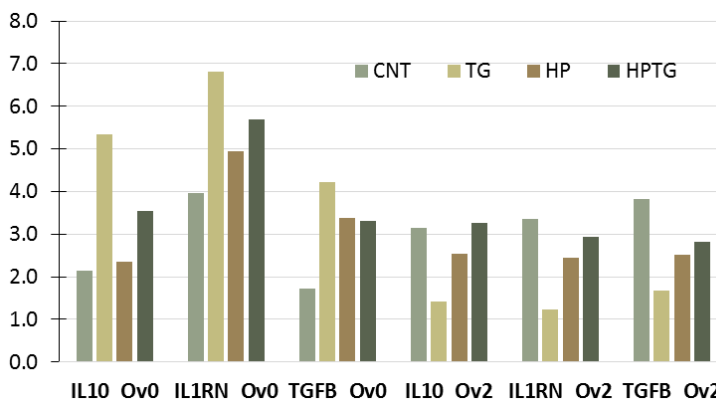


Διάγραμμα 6. 23 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των προφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια ουδετερόφιλα για τα πρόβεια όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 40 ημέρες μετά την παραγωγή (D+40)

Στα **Διαγράμματα 6.24** και **6.25** απεικονίζεται η συγκέντρωση των αντιφλεγμονωδών γονιδίων των δειγμάτων από πρόβειο γάλα, όπως προέκυψαν από πρόβεια μονοκύτταρα. Η επεξεργασία του γάλακτος με κάποια από τις μελετώμενες τεχνολογίες ή από το συνδυασμό τους, φαίνεται να διατηρεί σταθερή ή να αυξάνει ελαφρώς τη συγκέντρωση των γονιδίων αυτών στα παραγόμενα δείγματα. Στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των αντιφλεγμονωδών γονιδίων για τα δείγματα με 0% λιπαρά, ενώ αντίθετα, παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης των γονιδίων αυτών στα δείγματα με αυξημένη λιποπεριεκτικότητα. Η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ φάνηκε να διατηρεί σταθερή τη συγκέντρωση των γονιδίων αυτών στο τέλος της διάρκειας ζωής του προϊόντος (40 ημέρες).



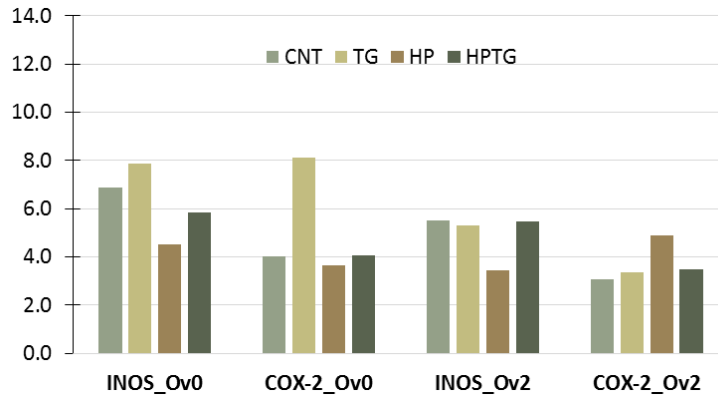
Διάγραμμα 6. 24 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των αντιφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια μονοκύτταρα για τα πρόβεια όξινα πήγματα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 3 ημέρες μετά την παραγωγή (D+3)



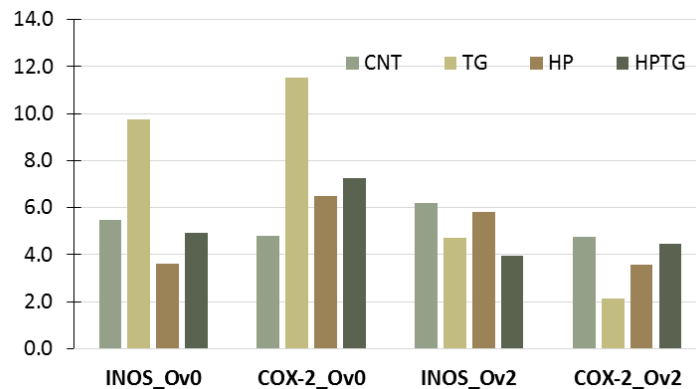
Διάγραμμα 6. 25 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των αντιφλεγμονωδών γονιδίων από πρόβεια μονοκύτταρα για τα πρόβεια όξινα πήγματα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 40 ημέρες μετά την παραγωγή (D+40)

Στα **Διαγράμματα 6.26** και **6.27** απεικονίζεται η συγκέντρωση των γονιδίων INOS και COX-2 από πρόβεια μονοκύτταρα για τα δείγματα από πρόβειο γάλα με 0% και 2% περιεκτικότητα σε λιπαρά. Όσον αφορά στο γονίδιο INOS, η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ οδήγησε σε μικρή

μείωση της συγκέντρωσής του αρχικά. Μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης των δειγμάτων, η συγκέντρωση του γονιδίου INOS φάνηκε να μειώνεται ελαφρά στην πλειοψηφία των μελετώμενων δειγμάτων.



Διάγραμμα 6. 26 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των γονιδίων INOS και COX-2 από πρόβεια μονοκύτταρα για τα πρόβεια όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 3 ημέρες μετά την παραγωγή (D+3)



Διάγραμμα 6. 27 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των γονιδίων INOS και COX-2 από πρόβεια μονοκύτταρα για τα πρόβεια όξινα πηγμάτα με περιεκτικότητα σε λιπαρά 0% και 2%, 40 ημέρες μετά την παραγωγή (D+40)

Στην περίπτωση του γονιδίου COX-2, η συγκέντρωσή του φάνηκε να επηρεάζεται μόνο στην περίπτωση των δειγμάτων από γάλα με 0% λιπαρά που είχε υποστεί ενζυμική επεξεργασία, όπου παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση του γονιδίου αυτού αρχικά, σε σχέση με τα δείγματα των οποίων το γάλα είχε υποστεί κάποια άλλη επεξεργασία. Στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση του γονιδίου για τα δείγματα με περιεκτικότητα 0% σε λιπαρά φάνηκε να αυξάνεται. Αντίθετα, για τα δείγματα με περιεκτικότητα 2% σε λιπαρά παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης του ίδιου γονιδίου μετά από 40 ημέρες αποθήκευσης των δειγμάτων.

6.2.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

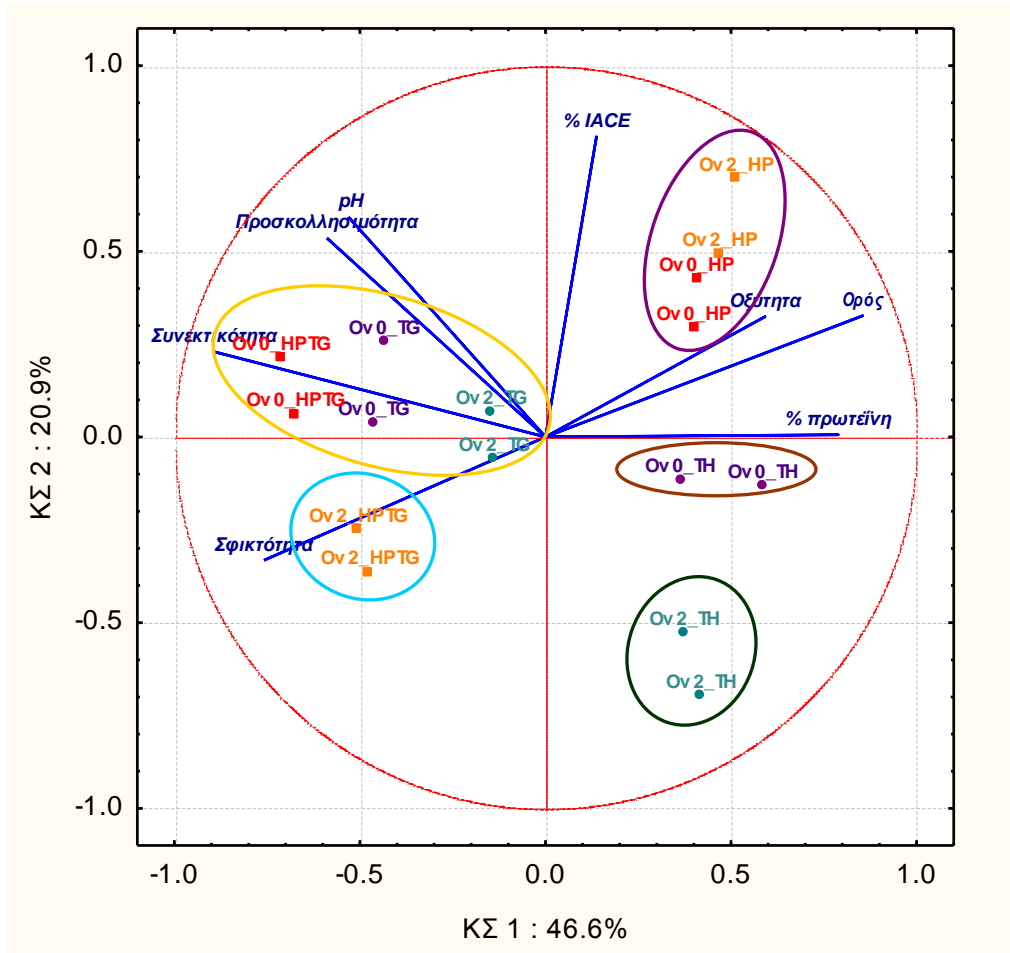
Προκειμένου να μελετηθεί περαιτέρω η επίδραση των εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας και η σύσταση του γάλακτος στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στις βιο-λειτουργικές ιδιότητες των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, τα δεδομένα που προέκυψαν από την ανάλυση των δεδομένων της υφής, των φυσικοχημικών και βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων των δειγμάτων, υποβλήθηκαν σε ανάλυση κύριων συνιστωσών (ΑΚΣ), με τις δύο κύριες συνιστώσες να αντιπροσωπεύουν το 67,5% της ολικής διακύμανσης (βλ. **Διάγραμμα 6.28**). Σύμφωνα με τις τιμές του πίνακα συσχέτισης κύριων συνιστωσών και προσδιορισμένων μεταβλητών (βλ. Παράρτημα), επιλέχθηκε να παρουσιαστεί το διάγραμμα των κύριων συνιστωσών (ΚΣ) 1 (46,6%) και 2 (20,9%). Η πρώτη κύρια συνιστώσα (ΚΣ 1) συσχετίστηκε θετικά με την οξύτητα (% γαλακτικό οξύ), το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού και την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των δειγμάτων. Επιπλέον, η ΚΣ 1 συσχετίστηκε αρνητικά με την παράμετρο της συνεκτικότητας, της προσκολλησιμότητας, της σφικτότητας και το pH. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα (ΚΣ 2) συσχετίστηκε έντονα με την % ACE ανασταλτική δραστηριότητα (% IACE) των δειγμάτων.

Όπως φαίνεται στο **Διάγραμμα 6.28** η ομαδοποίηση των δειγμάτων εξαρτάται τόσο από την εφαρμοζόμενη επεξεργασία στο γάλα, όσο και από τη σύσταση αυτού σε λιπαρή ύλη. Όσον αφορά στην επεξεργασία του γάλακτος, τα δείγματα των οποίων τα γάλα έχει επεξεργαστεί είτε θερμικά είτε με ΥΠ, φαίνεται να συσχετίζονται θετικά με την ΚΣ 1, ενώ τα δείγματα των οποίων το γάλα έχει υποστεί ενζυμική επεξεργασία, ανεξαρτήτως οποιασδήποτε άλλης προ-επεξεργασίας, φαίνεται να συσχετίζονται αρνητικά με την ΚΣ 1. Όσον αφορά στη σύσταση των δειγμάτων σε λιπαρά, παρατηρείται πως τα δείγματα με αυξημένη λιποπεριεκτικότητα επηρεάζονται σε μεγαλύτερο βαθμό είτε από την μεμονωμένη επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ, είτε από τον συνδυασμό της με την ενζυμική επεξεργασία. Έτσι, τα δείγματα που προέρχονται από γάλα με 2% λιπαρά, το οποίο έχει επεξεργαστεί με συνδυασμό των δύο μελετώμενων εναλλακτικών τεχνολογιών, παρουσιάζουν υψηλές τιμές σφικτότητα, και ενισχυμένα χαρακτηριστικά υφής σε σχέση με τα δείγματα από γάλα με 0% λιπαρά.

Όσον αφορά στο είδος της προ-επεξεργασίας του γάλακτος (θερμική ή ΥΠ), αυτή φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το ποιοτικό προφίλ των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, με την ΥΠ να οδηγεί σε αύξηση της % περιεκτικότητας σε γαλακτικό οξύ (οξύτητα), αλλά και του ποσοστού του αποβαλλόμενου ορού. Τα δείγματα από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ εμφανίζουν επίσης αυξημένη % ACE-ανασταλτική δράση, σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα δείγματα.

Όσον αφορά στην ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος, τα δείγματα από γάλα με 2% λιπαρά φαίνεται να διαφοροποιούνται σημαντικά, από το εάν η επεξεργασία με TGase ακολουθεί τη θερμική ή την επεξεργασία με ΥΠ. Έτσι, τα δείγματα που παρασκευάστηκαν από στο γάλα που είχε υποστεί συνδυασμένη επεξεργασία με ΥΠ και TGase φαίνεται να παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένες τιμές σφικτότητας σε σχέση με τα δείγματα, των οποίων το γάλα έχει επεξεργαστεί μόνο ενζυμικά. Αντίθετα, τα δείγματα από γάλα με 0% λιπαρά στο οποίο έχει εφαρμοστεί επεξεργασία με TGase, που ακολουθεί είτε θερμική είτε επεξεργασία με ΥΠ, δεν φαίνεται να παρουσιάζουν

σημαντικές διαφορές. Αξίζει να σημειωθεί πως τα δείγματα αυτά, σε συνδυασμό με τα δείγματα από γάλα με 2% λιπαρά, το οποίο έχει υποστεί ενζυμική επεξεργασία, παρουσιάζουν αυξημένες τιμές συνεκτικότητας, προσκολλησιμότητας και pH. Επιπλέον, στα δείγματα αυτά, λόγω της δράσης της TGase στο γάλα, και άρα του μεγαλύτερου βαθμού διασύνδεσης των πρωτεϊνών και της δημιουργίας σταθερού πρωτεϊνικού πλέγματος, παρατηρήθηκε μικρότερο ποσοστό αποβαλλόμενου ορού, γεγονός που ήταν αναμενόμενο αφού η συναίρεση συσχετίστηκε αρνητικά με την σφικτότητα.



Διάγραμμα 6. 28 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ) για τη μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας και της σύστασης του πρόβειου γάλακτος στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος

(Η ονομασία των δειγμάτων έχει ως εξής: Ov: πρόβειο γάλα, 0 ή 2: % περιεκτικότητα σε λιπαρά, TH: Θερμική επεξεργασία γάλακτος, HP: επεξεργασία γάλακτος με ΥΠ, TG: επεξεργασία του γάλακτος με το ένζυμο TGase, HPTG: επεξεργασία γάλακτος με ΥΠ και στη συνέχεια με TGase)

Σε αντίθεση με τα δείγματα από αγελαδινό γάλα, στην περίπτωση των δειγμάτων από πρόβειο γάλα, η συνδυαστική επεξεργασία του γάλακτος δεν επέφερε σημαντικά αυξημένη % ACE-

αντι-υπερτασική δράση. Μόνο τα δείγματα που το γάλα είχε επεξεργαστεί με ΥΠ παρουσίασε αυξημένο ποσοστό αντι-υπερτασικής δράσης. Ωστόσο τα δείγματα αυτά δεν συσχετίστηκαν θετικά με κάποια άλλη ποιοτική παράμετρο. Αντίθετα, τόσο από την ΑΚΣ όσο και από τις μεμονωμένες αναλύσεις τα δείγματα από γάλα επεξεργασμένο με ΥΠ φάνηκαν σε πολλές περιπτώσεις να παρουσιάζουν όμοια χαρακτηριστικά με τα δείγματα που είχαν προέλθει από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Οπότε στην περίπτωση των δειγμάτων από πρόβειο γάλα, δεν φαίνεται κάποια από τις επεξεργασίες να επιδρά με θετικό τρόπο σε όλα τα κύρια χαρακτηριστικά των πηγμάτων όπως στην περίπτωση του αγελαδινού γάλακτος.

6.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΠΗΓΜΑΤΩΝ

Προκειμένου να μελετηθεί περαιτέρω η επίδραση της προέλευσης του γάλακτος σε συνδυασμό με τις εναλλακτικές τεχνολογίες στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στις βιο-λειτουργικές ιδιότητες των παραγόμενων όξινων πηγμάτων, τα δεδομένα που προέκυψαν από την ανάλυση των δεδομένων της υφής, των φυσικοχημικών και βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων των δειγμάτων υποβλήθηκαν σε ανάλυση κύριων συνιστωσών (ΑΚΣ), με τις δύο κύριες συνιστώσες να αντιπροσωπεύουν το 65,5% της ολικής διακύμανσης (βλ. **Διάγραμμα 6.29**). Σύμφωνα με τις τιμές του πίνακα συσχέτισης κύριων συνιστωσών και προσδιορισμένων μεταβλητών (βλ. Παράρτημα), επιλέχθηκε να παρουσιαστεί το διάγραμμα των κύριων συνιστωσών (ΚΣ) 1 (47,2%) και 2 (18,3%). Η πρώτη κύρια συνιστώσα (ΚΣ 1) συσχετίστηκε θετικά την παράμετρο της προσκολλησιμότητας, το ποσοστό του αποβαλλόμενου ορού και την % ACE-ανασταλτική δράση. Η ίδια κύρια συνιστώσα συσχετίστηκε αρνητικά με τις παραμέτρους της συνεκτικότητας, το pH, την οξύτητα και την % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Η δεύτερη κύρια συνιστώσα (ΚΣ 2) συσχετίστηκε θετικά με την παράμετρο της σφικτότητας.

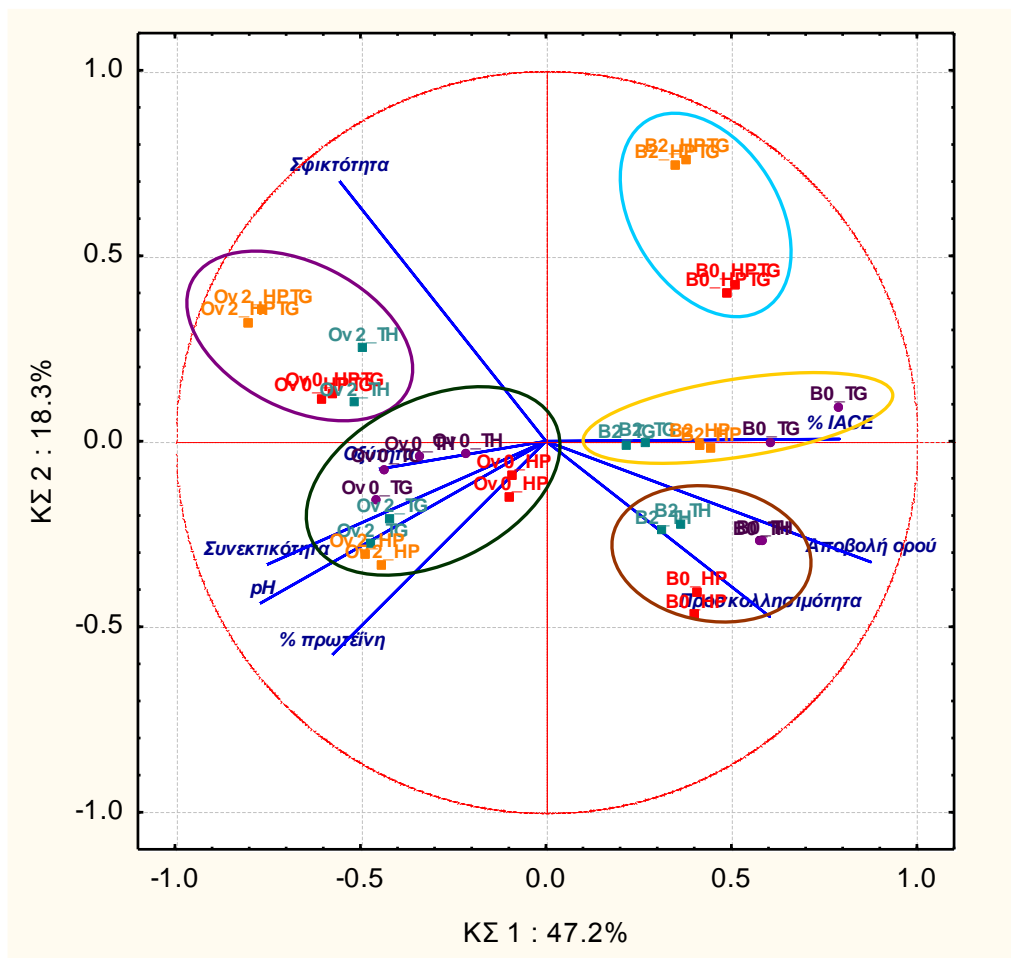
Η ΚΣ 1 συσχετίστηκε με την προέλευση του γάλακτος και συγκεκριμένα, τα δείγματα από αγελαδινό γάλα συσχετίστηκαν θετικά με τη συνιστώσα αυτή, και συνεπώς με όλα τα χαρακτηριστικά που συσχετίζονται θετικά μαζί της. Αντίθετα, τα δείγματα από πρόβειο γάλα συσχετίστηκαν αρνητικά με την ΚΣ 1, οπότε και με όλα τα χαρακτηριστικά που συσχετίζονται αρνητικά με αυτή. Έτσι, τα δείγματα από αγελαδινό γάλα χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερο ποσοστό αποβαλλόμενου ορού, υψηλότερες τιμές προσκολλησιμότητας και υψηλότερη % ACE-ανασταλτική δράση. Αντίθετα, τα δείγματα από πρόβειο γάλα χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερες τιμές συνεκτικότητας, παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές pH, ενώ όπως ήταν αναμενόμενο, έχουν μεγαλύτερη % περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

Ως προς την ομαδοποίηση και συσχέτιση των δειγμάτων από αγελαδινό γάλα, αρχικά παρατηρείται πως τα δείγματα από γάλα με 0% λιπαρά το οποίο έχει επεξεργαστεί είτε θερμικά είτε με ΥΠ, και τα δείγματα από γάλα με 2% το οποίο έχει επεξεργαστεί μόνο θερμικά, παρουσιάζουν παρόμοια τιμές προσκολλησιμότητας και συναίρεσης. Τα δείγματα από γάλα με 2% λιπαρά το οποίο έχει υποστεί είτε επεξεργασία με ΥΠ είτε ενζυμική, καθώς και από γάλα με 0% λιπαρά που έχει επεξεργαστεί ενζυμικά, παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλές τιμές % ACE ανασταλτικής δράσης. Τέλος, η συνδυασμένη εφαρμογή των δύο τεχνολογιών στο γάλα, διαφοροποιεί τα δείγματα, σε σχέση με τα υπόλοιπα, παρουσιάζοντας τις υψηλότερες τιμές σφικτότητας.

Στην περίπτωση του πρόβειου γάλακτος, τα δείγματα από γάλα είτε με 0% είτε με 2% λιπαρά, και το οποίο έχει επεξεργαστεί μεμονωμένα είτε με ΥΠ είτε ενζυμικά, δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Εξαιρέση αποτελούν τα δείγματα από γάλα με 2% λιπαρά, το οποίο έχει επεξεργαστεί θερμικά και το οποίο

παρουσιάζει ιδιαίτερα υψηλές τιμές σφικτότητας, καθώς επίσης και τα δείγματα από γάλα με 0% ή 2% λιπαρά, των οποίων το γάλα έχει επεξεργαστεί με συνδυασμό των δύο μελετώμενων τεχνολογιών.

Αξίζει να σημειωθεί, πως ανεξάρτητα από την πηγή προέλευσης του γάλακτος, η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος φαίνεται να επηρεάζει την εκάστοτε εφαρμοζόμενη τεχνολογία, αφού η αύξηση των λιπαρών στο γάλα, και συνεπώς η αύξηση των ολικών στερεών του χρησιμοποιούμενου γάλακτος, φαίνεται να δρα συνεργιστικά με τις μελετώμενες εναλλακτικές τεχνολογίες και να βελτιώνει τις παραμέτρους υφής και τις φυσικοχημικές ιδιότητες των τελικών όξινων πηγμάτων.



Διάγραμμα 6. 29 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (ΑΚΣ) για τη μελέτη της επίδρασης της προέλευσης και επεξεργασίας γάλακτος στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος

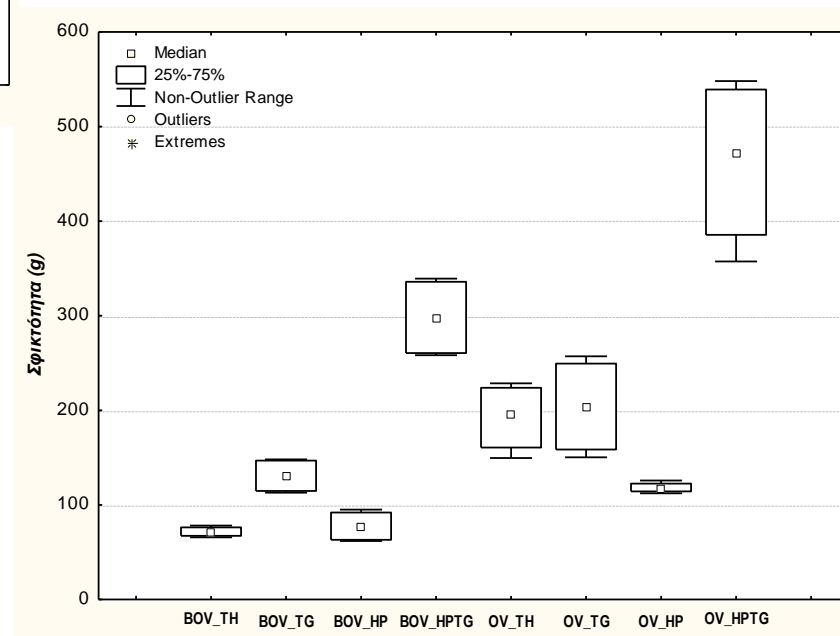
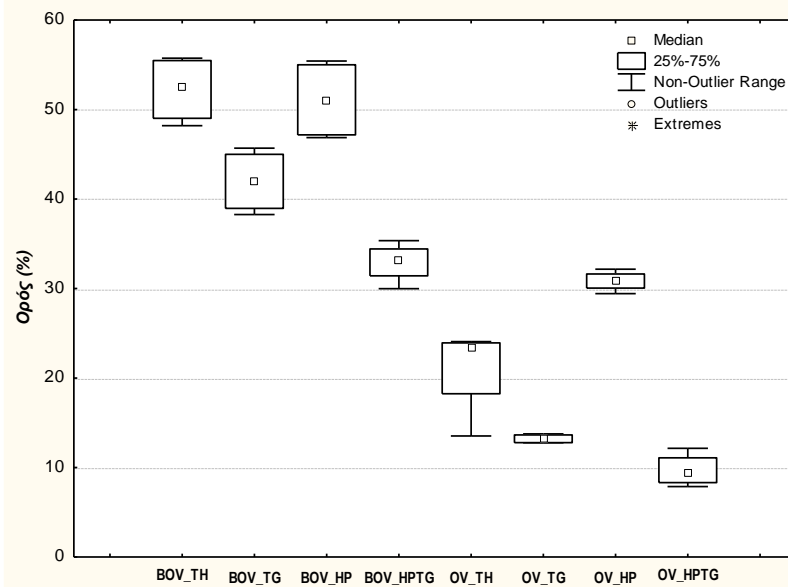
(Η ονομασία των δειγμάτων έχει ως εξής: B: αγελαδινό ή Ov: πρόβειο γάλα, 0 ή 2: % περιεκτικότητα σε λιπαρά, TH: Θερμική επεξεργασία γάλακτος, HP: επεξεργασία γάλακτος με ΥΠ, TG: επεξεργασία του γάλακτος με το ένζυμο TGase, HPTG: επεξεργασία γάλακτος με ΥΠ και στη συνέχεια με TGase)

Για να παρουσιαστεί μια καθαρότερη εικόνα ως προς την επίδραση τόσο της προέλευσης, όσο και της επεξεργασίας του γάλακτος στα δύο βασικότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά (σφικτότητα και % ορός) και τα βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά (% ACE-ανασταλτική δραστηριότητα μετά από 3 και 40 ημέρες αποθήκευσης) των τελικών όξινων πηγμάτων, κατασκευάστηκαν τα δισδιάστατα γραφήματα που απεικονίζουν τις μέσες τιμές και τα εύρη διακυμάνσεις (2D Box Plots) των παραμέτρων (**Εικόνα 6.5** και **6.6**, αντίστοιχα).

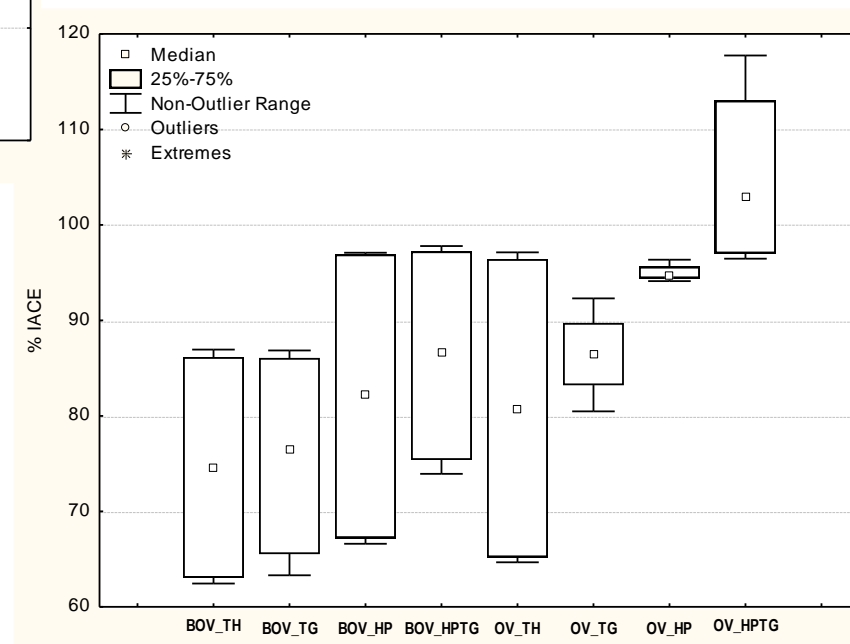
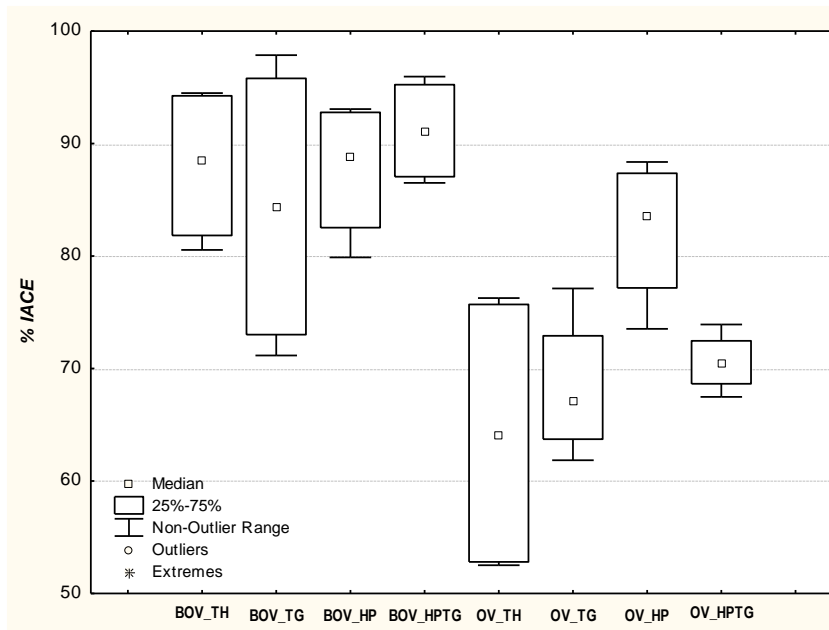
Όσον αφορά στην παράμετρο της σφικτότητας (**Εικόνα 6.5**), παρατηρείται ότι, και για τα δύο μελετώμενα δείγματα γάλακτος, η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος επέφερε αύξηση των τιμών της σφικτότητας, σε αντίθεση με την επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ, η οποία φάνηκε να μη μεταβάλλει ή και να μειώνει τις τιμές της παραμέτρου. Παρόλα αυτά, όταν η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ συνδυάστηκε με επακόλουθη ενζυμική επεξεργασία, η σφικτότητα των παραγόμενων πηγμάτων αυξήθηκε σημαντικά, ανεξάρτητα της προέλευσης του γάλακτος. Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι, στην περίπτωση της χρήσης πρόβειου γάλακτος, οι τιμές σφικτότητας των παραγόμενων όξινων πηγμάτων ήταν σημαντικά υψηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές για τα δείγματα από αγελαδινό γάλα, υποδεικνύοντας ότι το πρόβειο γάλα πιθανόν να αποτελεί καλύτερη πηγή γάλακτος όταν επιδιώκεται η ενίσχυση της δομής των τελικών προϊόντων. Αντιστρόφως ανάλογες τάσεις παρατηρήθηκαν αναφορικά με την παράμετρο της % αποβολής του ορού, με τα δείγματα από πρόβειο γάλα να εμφανίζουν συνολικά τις χαμηλότερες τιμές αποβαλλόμενου ορού, ανεξαρτήτως της επεξεργασίας του γάλακτος.

Όσον αφορά στην αντι-υπερτασική δράση των δειγμάτων (**Εικόνα 6.6**), 3 ημέρες μετά την παραγωγή των όξινων πηγμάτων, φαίνεται ότι η ενζυμική επεξεργασία επέφερε ενίσχυση της αντι-υπερτασικής δράσης στην περίπτωση των πηγμάτων από πρόβειο γάλα, ενώ στην περίπτωση των δειγμάτων από αγελαδινό γάλα δεν παρατηρήθηκε παρόμοια τάση. Για τα δείγματα από επεξεργασμένο με ΥΠ γάλα, στην περίπτωση χρήσης πρόβειου γάλακτος, παρατηρήθηκαν αρκετά υψηλά ποσοστά % ACE ανασταλτικής δράσης σε σχέση με τα δείγματα από συμβατικά ή ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα, ενώ στην περίπτωση χρήσης αγελαδινού γάλακτος δεν παρατηρούνται σημαντικές μεταβολές των αντίστοιχων δειγμάτων (από επεξεργασμένο με ΥΠ γάλα) σε σχέση με τα δείγματα από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Αξίζει να σημειωθεί ότι, παρόλο που τα δείγματα από αγελαδινό γάλα παρουσιάζουν υψηλότερα ποσοστά αντι-υπερτασικής δράσης στην αρχή του χρόνου αποθήκευσης (3 ημέρες) σε σχέση με τα δείγματα από πρόβειο γάλα, στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης (40 ημέρες) τα δείγματα από αγελαδινό γάλα εμφάνισαν παρόμοια ποσοστά %ACE ανασταλτικής δράσης με αυτά που είχαν αρχικά, ενώ στα δείγματα από πρόβειο γάλα παρουσίασαν σημαντικά ενισχυμένη αντι-υπερτασική δράση.

Από τις παραπάνω παρατηρήσεις καθίσταται σαφές ότι, οι μελετώμενες τεχνολογίες του γάλακτος δύναται να επηρεάσουν με διαφορετικό τρόπο τα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά των τελικών δειγμάτων, ως αποτελέσματα της διαφορετικής επίδρασής τους ανάλογα με το υπόστρωμα του γάλακτος που χρησιμοποιείται. Έτσι, τόσο η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος όσο και η επεξεργασία του με ΥΠ φαίνεται να δίνει καλύτερα στην περίπτωση του αγελαδινού γάλακτος, κυρίως όσον αφορά στις βιο-λειτουργικές ιδιότητες.



Εικόνα 6. 5 Διαγράμματα τύπου BoxPlot τα οποία υποδεικνύουν την μέση τιμή και το εύρος των παραμέτρων του ποσοστού του αποβαλλόμενου ορού (αριστερά) και της σφικτότητας (δεξιά) 3 ημέρες μετά την παραγωγή των προϊόντων



Εικόνα 6. 6 Διαγράμματα τύπου BoxPlot τα οποία υποδεικνύουν την μέση τιμή και το εύρος των παραμέτρων της % ace- ανασταλτικής δράσης 3 ημέρες μετά την παραγωγή των προϊόντων (αριστερά) και 40 ημέρες αποθήκευσης των προϊόντων (δεξιά)

Από την άλλη μεριά, η αρχικά αυξημένη πρωτεϊνική σύσταση του πρόβειου γάλακτος φαίνεται να δρα ενισχυτικά στη διαμόρφωση σταθερής και σφικτής δομής στα τελικά δείγματα, ενώ παράλληλα φαίνεται να ενισχύει τις βιο-λειτουργικές ιδιότητες των δειγμάτων κατά το χρόνο αποθήκευσής τους. Επομένως, η χρήση ενός μίγματος αγελαδινού-πρόβειου γάλακτος, επεξεργασμένο είτε ενζυμικά είτε με ΥΠ ή ακόμα και με συνδυασμό των δύο αυτών τεχνολογιών, πιθανότατα να οδηγούσε στην παραγωγή όξινων πηγμάτων χαμηλής λιποπεριεκτικότητας αλλά με σταθερές και σφικτές δομές, μειωμένα φαινόμενα συναίρεσης και ενισχυμένα βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

7.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία εφαρμόστηκαν εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας (ενζυμική επεξεργασία και επεξεργασία με ΥΠ) σε γάλα από διαφορετική πηγή προέλευσης, με ενισχυμένο πρωτεϊνικό περιεχόμενο και χαμηλά λιπαρά (0% και 2%), για την παραγωγή γιαουρτιού τύπου σετ, με σκοπό τη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων των παραγόμενων όξινων πηγμάτων. Με βάση τις διεθνείς βιβλιογραφικές αναφορές, η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί μία από τις πρώτες μελέτες για την εφαρμογή των τεχνολογιών αυτών σε γιαούρτι τύπου σετ από πρόβειο γάλα, και τον τρόπο με τον οποίο οι τεχνολογίες αυτές επηρεάζουν τις βιο-λειτουργικές ιδιότητες των πηγμάτων.

Όσον αφορά στο αγελαδινό γάλα, από τα αποτελέσματα των πειραμάτων που διεξάχθηκαν συμπεραίνεται ότι, οι εναλλακτικές τεχνολογίες επεξεργασίας του γάλακτος που προορίζεται για την παραγωγή γιαουρτιού τύπου σετ, και η συγκεκριμένα η επεξεργασία με TGase, μπορεί να οδηγήσει σε προϊόντα με βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής και μειωμένη συναίρεση. Η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ, δεν παρουσίασε σημαντικές μεταβολές στα χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς, αλλά λειτούργησε βελτιωτικά ως προς το ποσοστό της αντι-υπερτασικής δράσης του προϊόντος, ενώ στην περίπτωση των ανοσο-ρυθμιστικών ιδιοτήτων, η επεξεργασία του γάλακτος με TGase επέφερε αύξηση στην συγκέντρωση των αντιφλεγμονωδών γονιδίων. Η επεξεργασία του γάλακτος με ΥΠ και η συνεπακόλουθη επεξεργασία του με TGase, οδήγησε σε ακόμη πιο βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής και μειωμένα ποσοστά συναίρεσης στο τελικό πήγμα. Επιπρόσθετα, η αύξηση της σύστασης του γάλακτος σε λιπαρά οδήγησε σε βελτίωση των χαρακτηριστικών υφής και μείωση των ποσοστών συναίρεσης των παραγόμενων προϊόντων. Επιπρόσθετα, τα δείγματα από γάλα με μειωμένο περιεχόμενο σε λιπαρά οδήγησαν σε προϊόντα με καλύτερη αντι-υπερτασική δράση. Τέλος, η προσθήκη εξωγενούς πρωτεΐνης στο γάλα οδήγησε σε προϊόντα με μειωμένη συναίρεση, αλλά δε μετέβαλε τα χαρακτηριστικά υφής των τελικών προϊόντων.

Όσον αφορά στο πρόβειο γάλα, η εφαρμογή της εναλλακτικής επεξεργασίας με TGase, οδήγησε και σε αυτή την περίπτωση σε προϊόντα με βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής, μειωμένη συναίρεση, αλλά και βελτιωμένο ποσοστό αντι-υπερτασικής δράσης. Αντίθετα, η εφαρμογή της ΥΠ στο πρόβειο γάλα οδήγησε σε προϊόντα στα οποία δεν παρατηρήθηκαν βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής σε σχέση με τα χαρακτηριστικά υφής των προϊόντων από θερμικά επεξεργασμένο γάλα. Ο συνδυασμός της τεχνολογίας της ΥΠ με συνεπακόλουθη ενζυμική τροποποίηση του γάλακτος φάνηκε να δρα συνεργιστικά τόσο στη βελτίωση των χαρακτηριστικών υφής όσο και στα ποσοστά συναίρεσης των παραγόμενων όξινων πηγμάτων. Επιπλέον, στην περίπτωση του πρόβειου γάλακτος, ο συνδυασμός των τεχνολογιών για την επεξεργασία του γάλακτος οδήγησε σε πήγματα με βελτιωμένη αντι-υπερτασική δράση σε σχέση με τα προϊόντα που παράχθηκαν από γάλα επεξεργασμένο είτε θερμικά είτε με μεμονωμένη εφαρμογή κάποιας από τις μελετώμενες εναλλακτικές επεξεργασίες. Η αύξηση των λιπαρών στο γάλα, οδήγησε σε πήγματα με βελτιωμένα χαρακτηριστικά υφής σε σχέση με τα δείγματα από άπαχο πρόβειο γάλα, αλλά παρουσίασε παρόμοιες τιμές αποβολής ορού. Τέλος, όσον αφορά στην αντι-υπερτασική δράση από πρόβειο γάλα με διαφορετική σύσταση σε λιπαρά, παρατηρούνται μεγαλύτερα ποσοστά %ACE-ανασταλτικής δράσης για τα δείγματα με 0% λιπαρά, ενώ στην περίπτωση των αναοσο-ρυθμιστικών ιδιοτήτων τα δείγματα με περιεκτικότητα 2% σε λιπαρά παρουσίασαν πιο σταθερές συγκεντρώσεις όλων των γονιδίων.

Συμπερασματικά, η ενζυμική επεξεργασία του γάλακτος, όταν εφαρμόζεται είτε ακόλουθα της θερμικής επεξεργασίας είτε μετά την επεξεργασία με ΥΠ, βελτιώνει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του πηγματος, όπως είναι η σφικτότητα, η προσκολλησιμότητα, η συνεκτικότητα και η αποβολή του ορού, ανεξαρτήτως της προέλευσης του γάλακτος. Από τη μελέτη τόσο των ποιοτικών όσο και των βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων των παραγόμενων πηγμάτων καθίσταται σαφές ότι είναι δυνατόν να επιτευχθεί σημαντική βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και ενίσχυση των βιο-λειτουργικών ιδιοτήτων στην περίπτωση παραγωγής όξινων πηγμάτων από μίγμα γάλακτος των δύο πηγών προέλευσης, και με μεμονωμένη ή/και συνδυασμένη εφαρμογή της ΥΠ και της TGase.

7.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, η συνέχιση της ερευνητικής δραστηριότητας θα μπορούσε να συνοψισθεί στα ακόλουθα σημεία:

- Δεδομένου των ελλείψεων στη διεθνή βιβλιογραφία, περαιτέρω μελέτη της επεξεργασίας με ΥΠ και της ενζυμικής επεξεργασίας του πρόβειου γάλακτος, αφού αντιπροσωπεύει πολύ κοινή πηγή προέλευσης πρώτης ύλης κατά την παραγωγή γιαουρτιού, τόσο στις Βαλκανικές όσο και στις χώρες της Ανατολικής Ευρώπης.
- Μελέτη της επεξεργασίας με ΥΠ και της ενζυμικής επεξεργασίας διαφόρων μιγμάτων αγελαδινού και πρόβειου γάλακτος, με σκοπό την εύρεση της καταλληλότερης αναλογίας

για την παραγωγή ενός ζυμωμένου γαλακτοκομικού προϊόντος που να συνοψίζει όλα τα θετικά χαρακτηριστικά των δύο αυτών δειγμάτων γάλακτος (δομή, βιο-λειτουργικότητα).

- Μελέτη και άλλων βιο-λειτουργικών χαρακτηριστικών (π.χ. ανοσορυθμιστικά πεπτίδια) των τελικών όξινων προϊόντων, αλλά και της επίδρασης των μελετώμενων εναλλακτικών τεχνολογιών επεξεργασίας του γάλακτος στα χαρακτηριστικά αυτά.
- Οικονομοτεχνική μελέτη των μελετώμενων εναλλακτικών τεχνολογιών της επεξεργασίας με TGase ή/και ΥΠ, προκειμένου να αξιολογηθεί η βιομηχανική βιωσιμότητα των μεθόδων αυτών κατά την εφαρμογή τους σε προϊόντα όπως αυτά που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, σε σχέση με τα οφέλη που προκύπτουν τόσο ως προς το ίδιο το προϊόν (π.χ. χαρακτηριστικά υφής) όσο και ως προς τον καταναλωτή (βιο-λειτουργικότητα).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 1^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- Aluko R.E.** (Ed.) (2012). Bioactive peptide. *In: Functional Foods and Nutraceuticals*. Food Text Series p. 37-61. Springer Science+Business Media, LLC.
- Belitz H. -D., Grosch W., Schieberle P.** (2009). *Χημεία Τροφίμων*, 4^η Έκδοση. Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη.
- Bylund G.** (1995). *Dairy Processing Handbook*. Tetrapak Processing Systems, AB, Sweden.
- Cals M.M., Maillart P., Brignon G., Anglade P., Ribadeau Dumas B.** (1991). Primary structure of bovine lactoperoxidase, a fourth member of a mammalian heme peroxidase family. *European Journal of Biochemistry*, 198, 733–739.
- El-Agamy E.I.** (2007). The challenge of cow milk protein allergy. *Small Ruminant Research*, 68, 64–72.
- FAO** (2013). *Milk and Dairy Products in Human Nutrition*, Rome.
- Fox P.F.** (Ed.) (1997). Lactose, Water, Salts and Vitamins, *In: Advanced Dairy Chemistry Vol. 3*, 2nd ed., Chapman & Hall, London.
- Fox P.F., McSweeney P.L.H.** (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic Press & Professional Publishing, UK.
- Hashim I. B., Khalil A. H., Habib H.** (2009). Quality and acceptability of a set-type yogurt made from camel milk, *Journal of Dairy Science*, 92, 857–862.
- Hurley W.L.** (2003). Immunoglobulins in mammary secretions, *In: Advanced Dairy Chemistry Vol. 1: Proteins*, P.F. Fox & P.L.H. McSweeney (Eds.), 4th Ed., 421–447, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

- Kisza J., Domagała J., Wszolek M., Kolczak T.** (1993). Fromage type cheeses from sheep milk. *Acta Academiae Agriculturae, Technica Olstenensis, Technologia Alimentorum*, 25, 75-87.
- Korhonen H., Pihlanto A.** (2006). Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16, 945–960.
- Law A.J.R.** (1995). Effect of pH on the thermal denaturation of whey proteins in milk. *Milchwissenschaft*, 50, 384.
- Lønnerdal B., Suzuki A.Y.** (2013). Lactoferrin. *In: Advanced dairy chemistry, Vol. 1*, P.F. Fox & P.L.H. McSweeney (Eds.), 4th Ed., 295-316, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- Meisel H., FitzGerald R. J.** (2003). Biofunctional peptides from milk proteins: Mineral binding and cytomodulatory effects. *Current Pharmaceutical Design*, 9, 1289–1295.
- Nongonierma A. B., FitzGerald R. J.** (2015). The scientific evidence for the role of milk protein-derived bioactive peptides in humans: A Review. *Journal of Functional Foods*, 17, 640–656.
- O’Mahony J.A., Fox P.F.** (2013a). Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects. *In: Advanced dairy chemistry, Vol. 1*, P.F. Fox & P.L.H. McSweeney (Eds.), 4th Ed., 43-86, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- O’Mahony J.A., Fox P.F., Kelly A.L.** (2013b). Indigenous Enzymes of Milk. *In: Advanced dairy chemistry, Vol. 1*, P.F. Fox & P.L.H. McSweeney (Eds.), 4th Ed., 337–386, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- Pirkul T., Temiz A., Erdem, Y.K.** (1997). Fortification of yoghurt with calcium salts and its effect on starter microorganisms and yoghurt quality. *International Dairy Journal*, 7, 547.
- Sawyer, L.** (2003). β -Lactoglobulin, *In: Advanced dairy chemistry, Vol. 1*, P.F. Fox & P.L.H. McSweeney (Eds.), 4th Ed., 319–386, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- Silanikove N., Shapiro F.** (2007). Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity in bovine milk: physiological and technological implications. *International Dairy Journal*, 17, 1188–1194.
- Silva S.V., Malcata F.X.** (2005). Caseins as source of bioactive peptides. *International Dairy Journal*, 15, 1–15.
- Spanghero M., Susmel P.** (1996). Chemical composition and energy content of buffalo milk. *Journal of Dairy Research*, 63, 629-633.
- Swaigood, H.E.** (1982). Chemistry of milk proteins, *In: Developments in Dairy Chemistry Vol. 1, Proteins*, P.F. Fox (Ed.), Applied Science Publishers, London, 1–59.
- Tamime A.Y., Marshall Y.M.E.** (1997). Microbiology and technology of fermented milk. *In: Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, 2nd Ed.*, B. A. Fox (Ed.), 57–152, Blackie Academic & Professional, London.

Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (2007). *Yoghurt: Science & Technology* (3rd Ed.). CRC Press, UK.

Voutsinas L.P., Katsiari M.C., Pappas C.P., Mallatou H. (1996a). Production of yoghurt from sheep's milk which had been concentrated by reverse osmosis and stored frozen. I. Physicochemical, microbiological and physical stability characteristics of concentrates. *Food Research International*, 29, 403-409.

Voutsinas L.P., Katsiari M.C., Pappas C.P., Mallatou H. (1996b). Production of yoghurt from sheep's milk which had been concentrated by reverse osmosis and stored frozen. II. Compositional, microbiological, sensory and physical characteristics of yoghurt. *Food Research International*, 29, 411-416.

Walstra, P., Wouters, J.T.M., & Geurts, T.J. (2006). *Dairy Science & Technology*. 2nd Ed., CRC Press, USA.

Wernery U., Johnson B., Abrahm A. (2005). The effect of short-term heat treatment on vitamin C concentrations in camel milk. *Milchwissenschaft*, 60, 266- 267

WHO. (2013). *Cardiovascular diseases* (CVDs). Factsheet No. 317. Accessed in February 2015.

Zhang H., Yao J., Zhao D., Liu J., Guo M. (2005). Changes in chemical composition of Alxa Bactrician camel milk during lactation. *Journal of Dairy Science*, 88, 3402-3410.

Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων & Ποτών (Έκδοση 2009 με Αναθεωρημένες Διατάξεις έως 2014). Επιμέλεια-Έκδοση: Γενικό Χημείο του Κράτους, Αθήνα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

Aguirre-Ezkauriatza E.J., Galarza-González M.G., Uribe-Bujanda A.I., Ríos-Licea M., et al. (2008). Effect of mixing during fermentation in yogurt manufacturing. *Journal of Dairy Science*, 91, 4454-4465.

Ashokkumar M., Sunartio D., Kentish S., Mawson R., Simons L., Vilku K., et al. (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9, 155-160.

Barbosa-Canovas G., Bermudez- Aguirre D. (2010). Other novel milk preservation technologies: ultrasound, irradiation, microwave, radio frequency, ohmic heating, ultraviolet light and bacteriocins. In: *Improving the safety and quality of milk, Vol (1): Milk production and processing*. Griffiths M.W. (Ed), 420-450, Woodhead Publising, CRC Press.

Bermudez-Aguirre D., Mawson R., Versteeg K., Barbosa- Canovas G. V. (2009). Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality*, 32, 283-302.

- Benozzi E., Romano A., Capozzi V., Makhoul S., Cappellin L., Khomenko J., et al.** (2015). Monitoring of lactic fermentation driven by different starter cultures via direct injection mass spectrometric analysis of flavour-related volatile compounds. *Food Research International*, 76, 682–688.
- Bylund G.** (1995). *Dairy Processing Handbook*. Tetrapak Processing Systems, AB, Sweden.
- Ciron C. I. E., Gee V. L., Kelly A. L., Auty, M. A. E.** (2010). Comparison of the effects of high-pressure microfluidization and conventional homogenization of milk on particle size, water retention and texture of non-fat and low-fat yoghurts. *International Dairy Journal*, 20, 314-320.
- FAO/WHO** (2011). *Codex Alimentarius: Milk and Milk Products*, 2nd Ed., Rome.
- Huppertz T.** (2011). Homogenization of milk: high-pressure homogenizers. In: *Encyclopedia of dairy sciences*, 2nd Ed., J. W. Fuquay (Ed.), 755-760, Academic Press, San Diego, USA.
- Huppertz T., de Kruif C. G.** (2006). Disruption and re-association of casein micelles under high pressure: influence of milk serum composition and casein micelle concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5903-5909.
- Lee, W.J., & Lucey, J.A.** (2003). Rheological properties, whey separation, and microstructure in set-style yogurt: Effects of heating temperature and incubation temperature. *Journal of Texture Studies*, 34, 515-536.
- Loveday S. M., Sakar A., Singh H.** (2013). Innovative yoghurts: Novel processing for improving acid milk gel texture. *Trends in Food Science & Technology*, 33, 5-20.
- Lucas A., Sodini I., Monnet C., Jolivet P., Corrieu G.** (2004). Probiotic cell counts and acidification in fermented milks supplemented with milk protein hydrolysates. *International Dairy Journal*, 14, 47-53.
- Lucey J. A.** (2001). The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Food Hydrocolloids*, 15, 603-608.
- Onwulata C.I., Konstance R.P., Tomasula P.M.** (2004). Minimizing variations in functionality of whey protein concentrates from different sources, *Journal of Dairy Science*, 87, 749-765.
- Patrignani F., Burns P., Serrazanetti D., Vinderola G., Reinheimer J., Lanciotti R., et al.** (2009). Suitability of high pressure homogenized milk for the production of probiotic fermented milk containing *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Research*, 76, 74-82.
- Riener J., Noci F., Cronin D. A., Morgan D. J., Lyng J. G.** (2009). The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. *Food Chemistry*, 114, 905-911.
- Robinson R.K., Haddadin M.S.Y.** (2010). Milk quality requirements for yoghurt-making. In: *Improving the safety and quality of milk, Vol (2): Improving quality of milk products*. Griffiths M.W. (Ed), 417-432, Woodhead Publishing, CRC Press.

Schkoda P., Hechler A., Hinrichs J. (2001). Influence of the protein content on structural characteristics of stirred fermented milk. *Milchwissenschaft*, 56, 19-22.

Tamime A.Y., Robinson R.K. (2007). *Yoghurt: Science & Technology* (3rd Ed.). CRC Press, UK.

Titapiccolo G. I., Corredig M., Alexander M. (2011). Acid coagulation behavior of homogenized milk: effect of interacting and non-interacting droplets observed by rheology and diffusing wave spectroscopy. *Dairy Science and Technology*, 91, 185-201.

Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων & Ποτών (Έκδοση 2009 με Αναθεωρημένες Διατάξεις έως 2014). Επιμέλεια-Έκδοση: Γενικό Χημείο του Κράτους, Αθήνα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

Ando H., Adachi M., Umeda K., Matsuura A., Nonaka M., Uchio R., Tanaka H., Motoki M. (1989). Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agricultural & Biological Chemistry*, 53, 2613-2617.

Anema S.G., Lauber S., Lee S.K., Henle T., Klostermeyer H. (2005). Rheological properties of acid gels prepared from pressure and transglutaminase-treated skim milk. *Food Hydrocolloids*, 19, 879–887.

Belitz H. -D., Grosch W., Schieberle P. (2009). *Χημεία Τροφίμων*, 4^η Έκδοση. Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη.

Bönisch M., Huss M., Weitzl K., Kulozik U. (2007). Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. *International Dairy Journal*, 17, 1360-1371.

Clarke D.D, Neidle A., Sarkar N.K., Waelsch H. (1957). Metabolic activity of protein amide groups. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 71, 277-279.

Dickinson E., Bergenstahl B. (1997). *Proteins, Lipids and Polysaccharides*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Domagała J., Wszółka M., Tamime A.Y., Kupiec-Teahan B. (2013). The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresis and microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period. *Small Ruminant Research*, 112, 154– 161.

Ercili-Cura D., Lille M., Legland D., Gaucel S., Poutanen K., Partanen R., et al. (2013). Structural mechanisms leading to improved water retention in acid milk gels by use of transglutaminase. *Food Hydrocolloids*, 30, 419-427.

Falcone P., Serafini-Fracassini D., Del Duca S. (1993). Comparative studies of transglutaminase activity and substrates in different organs of *Helianthus tuberosus*. *Journal of Plant Physiology*, 142, 265–273.

- Fesus L., Piacentini M.** (2002). Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. *Trends in Biochemical Sciences*, 27, 534–539.
- Folk J.E., Cole P.W.** (1966). Mechanism of action of guinea pig liver transglutaminase. I. Purification and properties of the enzyme; identification of a functional cysteine essential for activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 41, 5518–5525.
- Hinz K., Huppertz T., Kelly A. L.** (2012). Susceptibility of the individual caseins in reconstituted skim milk to cross-linking by transglutaminase: influence of temperature, pH and mineral equilibria. *Journal of Dairy Research*, 79, 414-421.
- Huang X. L., Catignani G. L., Swaisgood H. E.** (1995). Immobilization of biotinylated transglutaminase by bioselective adsorption to immobilized avidin and characterization of the immobilized activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 895–901.
- Ikura K., Kometani T., Yoshikawa M., Sasaki R., Chiba H.** (1980). Cross-linking of casein components by transglutaminase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 44, 1567–1573.
- Jaros D., Rohm H.** (2011). Transglutaminase. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences Vol. 2*, J. W. Fuquay, P.F. Fox, P.L.H. McSweeney (Eds.), 2nd Ed., 297-300, Academic Press, San Diego, USA.
- Jaros D., Jacob M., Otto C., Rohm H.** (2010). Excessive cross-linking of caseins by microbial transglutaminase and its impact on physical properties of acidified milk gels. *International Dairy Journal*, 20, 321-327.
- Jaros D., Partschfeld C., Henle T., Rohm H.** (2006). Transglutaminase in dairy products: Chemistry, Physics, Applications. *Journal of Texture Studies*, 37, 113-155.
- Kashiwagi T., Yokoyama K., Ishikawa K., Ono, K., Ejima D., Matsui H., Suzuki E.** (2002). Crystal structure of microbial transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 44252-44260.
- Kieliszek M., Misiewicz A.** (2014). Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia Microbiology*, 59, 241-250.
- Lauber S., Krause I., Klostermeyer H., Henle T.** (2003). Microbial transglutaminase cross-links and bgr; casein and bgr, lactoglobulin to heterologous oligomers under high pressure. *European Food Research and Technology*, 216, 15-17.
- Lu S.Y., Zhou N.D., Tian Y.P., Li H.Z., Chen J.** (2003). Purification and properties of transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *Journal of Food Biochemistry*, 27, 109-125.
- Motoki M., Seguro K.** (1998). Transglutaminase and its use for food processing. *Journal of Trends, Food Science & Technology*, 9, 204-210.
- O’Connell J. E., Kruif C. G.** (2003). β -casein micelles: crosslinking with transglutaminase. *Colloids and Surfaces A: Physicochemistry Engineering Aspects*, 216, 75–81.

- Özer B., Kirmaci H.A., Oztekin S., Hayaloglu, A.** (2007). Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International Dairy Journal*, 17, 199-207.
- Özrenk E.** (2006). The use of transglutaminase in dairy products: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 1-7.
- Şanlı T., Sezgin E., Deveci O., Şenel E., Benli M.** (2011). Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory 1 properties of set-type yoghurt. *Food Hydrocolloids*, 25, 1477-1481.
- Schleikin A.G., Danilov N.P.** (2011). Evolutionary-Biological Peculiarities of Transglutaminase. Structure, Physiological Functions, Application. *Journal of Evolutionary Biochemistry & Physiology*, 47, 3-14.
- Sharma R., Zakora M., Qvist K. B.** (2002). Susceptibility of an industrial α -lactalbumin concentrate to cross-linking by microbial transglutaminase. *International Dairy Journal*, 12, 1005–1012.
- Smiddy M. A., Martin J. E. G. H., Kelly A. L., de Kruif C. G., Huppertz T.** (2006). Stability of casein micelles cross-linked by transglutaminase. *Journal of Dairy Science*, 89, 1906-1914.
- Tsevdou M. S., Eleftheriou E. G., Taoukis P. S.** (2013). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: effects on the properties and storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 144-152.
- Wilson E.O.** (1992). *The Diversity of Life*, Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Yasueda H., Nakanishi K., Kumazawa Y., Nagase K., Motoki M., Matsui H.** (1995). Tissue-type transglutaminase from red sea bream (*Pagrus major*). Sequence analysis of the cDNA and functional expression in *Escherichia coli*. *European Journal of Biochemistry*, 232, 411–419.
- Yokoyama K., Nio N. and Kikuchi Y.** (2004). Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applications of Microbiology and Biotechnology*, 64, 447–454.
- Yokoyama K., Kikuchi Y., Yasueda H.** (1998). Overproduction of DnaI in *Escherichia coli* improves in vivo solubility of the recombinant fish-derived Transglutaminase. *Bioscience, Biotechnology, & Biochemistry*, 62, 1205-1210.
- Yüksel Z., Erdem Y. K.** (2010). The influence of transglutaminase treatment on functional properties of set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 86-97.
- Zhu Y., Rinzema A., Tramper J., Bol J.** (1995). Microbial transglutaminase—a review of its production and application in food processing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 44, 277–282.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- Anema S.G., Lauber S., Lee S.K., Henle T., Klostermeyer H.** (2005). Rheological properties of acid gels prepared from pressure- and transglutaminase-treated skim milk. *Food Hydrocolloids*, *19*, 879-887.
- Balasubramaniam V.M., Farkas D., Turek E.J.** (2011). Preserving Foods through High Pressure Processing. *Food Technology*, *11*, 32-38.
- Balasubramaniam V.M., Farkas D.** (2008). High pressure food processing. *Food Science and Technology International*, *14*, 413-418.
- Balasubramaniam V.M., Ting E.Y., Stewart C.M., Robbins J.A.** (2004). Recommended laboratory practices for conducting high-pressure microbial inactivation experiments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *5*, 299–306.
- Baluy C., Masson P.** (1993). Effects of high pressure on proteins. *Food Reviews International*, *9*, 611-628.
- Buchheim W., Frede E.** (1996). Use of high-pressure treatment to influence the crystallization of emulsified fats. *DMZ: Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*, *117*, 228–237.
- Buffa M.N., Trujillo A.J., Pavia M., Guamis B.** (2001). Changes in textural, microstructural and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, *11*, 927-934.
- Butz P., Bognar A., Dieterich S., Tauscher B.** (2007). Effect of high pressure processing at elevated temperatures on thiamin and riboflavin in pork and model systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *55*, 1289-1294.
- Caner C., Hernandez R. J., Harte B. R.** (2004). High-pressure properties of food packaging flexible structures: A critical review. *Packaging Technology and Science*, *17*, 23–29.
- Chawla R., Patil G.R., Singh A.K.** (2011). High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. *Journal of Food Science & Technology*, *48*, 260-268.
- Cheftel J.C.** (1995). High-pressure, microbial inactivation and food preservation review. *Food Science and Technology International*, *1*, 75-90.
- Corkindale D.** (2006). Technology too risky for major players. *Food Technology and Ingredients*, *3*, 56–57.
- Denys S., Van Loey A.M., Hendrickx M.E.** (2000). A modelling approach for evaluating process uniformity during batch high hydrostatic pressure processing: Combination of a numerical heat transfer model and enzyme inactivation kinetics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *1*, 5-19.
- Farkas D.F., Hoover D.G.** (2000). High Pressure Processing. *Journal of Food Science*, *65*, 47-64.

- Ferragut V., Martinez V.M., Trujillo A.J., Guamis B.** (2000). Properties of yoghurts made from whole ewe's milk treated by high hydrostatic pressure. *Milchwissenschaft*, 55, 267-269.
- Gabrovska D., Paulickova I., Maskova E., Fiedlerova V., Kocurova K., Pruchova J.** (2005). Changes in selected vitamins, microorganism counts and sensory quality during storage of pressurized sprouted seed of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Czech Journal of Food Sciences*, 23, 246-250.
- Harte F., Luedecke L., Swanson B., Barbosa-Cánovas G.V.** (2003). Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. *Journal of Dairy Science*, 86, 1074-1082.
- Heinz V., Buckow R.** (2010). Food preservation by high pressure. *Journal of Consumer Protection & Food Safety*, 5, 73-81.
- Heremans K.** (1995). High-pressure effect on biomolecules. *Ledward, D.A., Johnston, D.E., Earnshaw, R.G., & Hasting, A.P.M. (Eds.), Nottingham, University Press, Loughborough, UK.*
- Hernandez A., Harte F.M.** (2008). Manufacture of acid gels from skim milk using high-pressure homogenization. *Journal of Dairy Science*, 9, 61-67.
- Hite B.H.** (1899). The effect of pressure in the preservation of milk. *Bull. West Virginia Univ. Virginia. Expt. Station*, 58, 15-35.
- Hugas M., Garriga M., Monfort J. M.** (2002). New mild technologies in meat processing: High pressure as a model technology. *Meat Science*, 62, 359-371.
- Huppertz T., Hinz K., Zobrist M. R., Uniacke T., Kelly A. L., Fox P. F.** (2005). Effects of high pressure treatment on the rennet coagulation and cheese-making properties of heated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6, 279-285.
- Huppertz T., Kelly A. L., Fox P. F.** (2002). Effects of high pressure on constituents and properties of milk: Review. *International Dairy Journal*, 12, 561-572.
- Jankowska A., Grzekiewicz A., Winiewska K., Reps A.** (2012). Examining the possibilities of applying high pressure to preserve yoghurt supplemented with probiotic bacteria. *High Pressure Research*, 32, 339-346.
- Johnston, D. E., Austin, B. A., Murphy R. J.** (1992). Effects of high hydrostatic pressure on milk. *Milchwissenschaft*, 47, 760-763.
- Jung C., Tonello C., Lamballerie M.** (2011). High hydrostatic pressure food processing, *In: Alternatives to Conventional Food Processing, Proctor A. (Ed.)*, 254-306, RSC Publishing, Cambridge, UK.
- Kadam P.S., Jadhav B.A., Salve R.V., Machewad G.M.** (2012). Review on the High Pressure Technology (HPT) for Food Preservation. *Journal of Food processing & Technology*, 3, 135-139.

- Kolakowski P., Reps A, Dajnowiec F., Szczepek J., Porowski S.** (1997). Effect of High Pressures on the microflora of raw cow's milk. *In: Process Optimization and Minimal Processing of Foods, Oliveira J.C., F.A.R. Oliveira (Eds.), Proceedings of the third main meeting, Volume 4: High Pressure, 46-50.*
- Knudsen J. C., Karlsson A. O., Ipsen R., Skibsted L. H.** (2006). Rheology of stirred acidified skim milk gels with different particle interactions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 274, 56-61.*
- LeBail A., Hamadami N., Bahuau S.** (2006). Effect of high pressure processing on the mechanical and barrier properties of selected packagings. *Packaging Technology and Science, 19, 237-243.*
- Lopez-Fandino R., Carrascosa A.V., Olano A.** (1996). The effect of high pressure on whey protein denaturation and cheese making properties of raw milk. *Journal of Dairy Science, 79, 923-936.*
- Loveday S.M., Sarkar A., Singh H.** (2013) Innovative yoghurt: novel processing technologies for improving acid milk gel texture. *Trends in Food Science & Technology, 33, 5-20.*
- Mertens B.** (1995). Hydrostatic pressure treatment of food: Equipment and processing, *New Methods of Food Preservation, Gould G. W. (Ed.), 135-158, Blackie Academic and Professional, New York.*
- Morgan S.M., Ross R.P., Beresford T., Hill C.** (2000). Combination of high hydrostatic pressure and lactacin 3147 causes increased killing of Staphylococcus and Listeria. *Journal of Applied Microbiology, 88, 414-420.*
- Mújica-Paz H., Valdez-Fragoso A., Tonello C.S., Welti-Chanes J., Torres J.A.** (2011). High-Pressure Processing Technologies for the Pasteurization and Sterilization of Foods. *Food & Bioprocess Technology, 4, 969-985.*
- Naik L., Sharma, R., Rajput Y. S., Manju G.** (2013). Application of High Pressure Processing Technology for Dairy Food Preservation - Future Perspective: A Review. *Journal of Animal Production Advances, 3, 232-241.*
- Narisawa N., Furukawa S., Kawarai T., Ohishi K., Kanda S., Kimijima K., Negishi S., Ogihara H., Yamasaki M.** (2008). Effect of skimmed milk and its fractions on the inactivation of Escherichia coli K12 by high hydrostatic pressure treatment. *International Journal of Food Microbiology, 124, 103-107.*
- Needs E.C., Stenning R.A., Gill A.L., Ferragut V., Rich G.T.** (2000). High-pressure treatment of milk: effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation. *Journal of Dairy Research, 67, 31-42.*
- Norton T., Sun D.W.** (2008). Recent Advances in the Use of High Pressure as an Effective Processing Technique in the Food Industry. *Food Bioprocess Technology, 1, 2-34.*

- Oey I., Lille M., Van Loey A., Hendrickx M.** (2008). Effect of high pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 320-328.
- Ohlsson T.**, (2002) Minimal processing of foods with thermal methods, *Minimal Processing Technologies in the Food Industry*, Woodhead Publishing Limited, Boca Raton, FL
- Ramaswamy H.S., Jin H., Zhu S.**, (2009) Effects of fat, casein and lactose on high-pressure destruction of *Escherichia coli* K12 (ATCC-29055) in milk. *Food & Bioproducts Process*, 87, 1-6.
- Rasanayagam V., Balasubramaniam V.M., Ting E., Sizer C.E., Bush C., Anderson C.** (2003). Compression heating of selected fatty food materials during high pressure processing. *Journal of Food Science*, 68, 225-259.
- Rastogi N.K.** (2013). High pressure processing of dairy products. In: *Recent Developments in High Pressure Processing of Foods*, R.W. Hartel (Ed.), 51-66, Springer Briefs in Food, Health & Nutrition, New York.
- Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S., Balasubramaniam V.M., Niranjana K., Knorr D.** (2007). Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 69-1124.
- Rastogi N. K., Raghavarao K.S.M.S.** (1994). Effect of temperature and concentration of osmotic dehydration of coconut. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie*, 27, 264-267.
- Reps, A., Warminska Radyko, I., & Dajnowiec, F.** (1999). Effect of high pressure on yoghurt. In: *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology*, Ludwig H. (Ed.), 453-456, Heidelberg, Germany: Springer.
- Reps A., Warminska Radyko I., Krzyewska A., Tomasik J.** (2001). Effect of high pressures on *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. *Milchwissenschaft*, 56, 131-133.
- Ting E. Y., Marshall R. G.** (2002). Production Issues Related to UHP Food. In: *Engineering and food for the 21st century. Food preservation technology series*, Welty-Chanes J., Barbosa-Canovas G. V., Aguilera J. M. (Eds.), 44, 727-738.
- Trujillo A.J., Capellas M., Saldo J., Gervilla R., Guamis B.** (2002). Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: a review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3, 295-307.
- Sàiz A.H., Mingo S.T., Balda F.P., Samson C.T.** (2008). Advances in design for successful commercial high pressure food processing. *Food Australia*, 60, 154-156.
- Sánchez-Moreno C., Plaza L., Elez-Martínez P., De Ancos B., Martín-Belloso O., Cano, M.P.** (2005). Impact of high-pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice and comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 403-4409.

- Sandra S., Stanford, M. A., Meunier Goddik L.** (2004). The use of high-pressure processing in the production of Queso Fresco cheese. *Journal of Food Science*, 69, 153–158.
- Serra, M., Trujillo, A.J., Quevedo, J.M., Guamis, B., Ferragut, V.** (2007). Acid coagulation properties and suitability for yogurt production of cows' milk treated by high-pressure homogenisation. *International Dairy Journal*, 17, 782-790.
- Serra, M., Trujillo, A.J., Pereda, J., Gumais, B., Ferragut, V.** (2008). Quantification of lipolysis and lipid oxidation during cold storage of yoghurts produced from milk treated by ultra-high pressure homogenization. *Journal of Food Engineering*, 89, 99-104.
- Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V.** (2009). Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. *International Dairy Journal*, 19, 100-106.
- Smelt J.M.** (1998). Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 152-158.
- Tanaka T., Hatanaka K.** (1992). Application of hydrostatic pressure to yoghurt to prevent its after acidification. *Journal of the Japanese Society for Food Science & Technology*, 39, 173-177.
- Tsevdou M. S., Eleftheriou E. G., Taoukis P. S.** (2013). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: effects on the properties and storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 144-152.
- Udabage P., Puvanenthiran A., Jin A.Y., Versteeg C., Augustin M. A.** (2012). Modified water solubility of milk protein concentrate powders through the application of static high pressure treatment. *Journal of Dairy Research*, 79, 76–83.
- Vachon J.F., Kheadr E.E., Giasson J., Paquin P, Fliss I.** (2002). Inactivation of food-borne pathogens in milk using dynamic high pressure. *Journal of Food Protection*, 65, 345-352.
- Walker M.K., Farkas D.F., Loveridge V., Meunier-Goddik L.** (2006). Fruit yogurt processed with high pressure. *International Journal of Food Science & Technology*. 41, 464–467.
- Walsh-O'Grady C. D., O'Kennedy B. T., Fitzgerald R. J., Lane C. N.** (2001). A rheological study of acid-set "simulated yogurt milk" gels prepared from heat or pressure-treated milk proteins. *Lait*, 81, 637-650.
- Legislation for Novel Food, Food Safety**, European Commission, 2015, available from: http://ec.europa.eu/food/safety/novel_food/legislation/index_en.htm (accessed 05.05.2015).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 5^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- AOAC** (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Ed. Herlich K., 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists Inc., Virginia, USA.

- de Brabandere A.G., de Baerdemaeker J.G.** (1999). Effects of process conditions on the pH development during yoghurt fermentation. *Journal of Food Engineering*, 41, 221-227.
- Donkor O.N., Henriksson A., Singh T.K., Vasiljevic T., Shah N.P.** (2007). ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt, *International Dairy Journal*, 17, 1321–1331.
- International Commission on Illumination, CIE Colorimetry** - Part 4: 1976 L*a*b* Colour Space, http://cie.co.at/index.php?i_ca_id=485 (last accessed: 2015).
- Kuchroo C.N., Fox P.F.** (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 651-653.
- Marshall O. J.** (2004). PerlPrimer: Cross-platform, graphical primer design for standard, bisulphite and real-time PCR. *Bioinformatics*, 20, 2471-2472.
- Nakamura Y., Yamamoto N., Sakai K., Okubo A., Yamazaki S., Takano T.** (1995). Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from a sour milk. *Journal of Dairy Science*, 78, 777–783.
- Pfaffl M.W.** (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time PT-PCR. *Nucleic Acid Research*, 29, 45-49.
- Politis I., Theodorou G., Lampidonis A.D., Chronopoulou R., Baldi A.** (2012). Soya protein hydrolasates modify the expression of various pro-inflammatory genes induced by fatty acids in ovine phagocytes. *British Journal of Nutrition*, 108, 1246-1255.
- Tsevdou M.S., Eleftheriou E.G., Taoukis P.S.** (2013a). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 144–152.
- Tsevdou M., Soukoulis C., Gasperi F., Taoukis P. S., Biasioli F.** (2013b). Monitoring the effect of high pressure and transglutaminase treatment of milk on the evolution of flavor compounds during lactic acid fermentation using PTR-ToF-MS, *Food Chemistry*, 138, 2159-2167.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 6^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

- Amirdivani S., Baba A.S.** (2011). Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-I converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *Food Science & Technology*, 44, 1458–1464
- Anema S. G., Lauber S., Lee S. K., Henle T., Klostermeyer H.** (2005). Rheological properties of acid gels prepared from pressure- and transglutaminase-treated skim milk. *Food Hydrocolloids*, 19, 879-887.

- Bönisch M., Huss M., Weigl K., Kulozik U.** (2007). Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. *International Dairy Journal*, 17, 1360-1371.
- Chawla R., Patil G.R., Singh A.K.** (2011). High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. *Journal of Food Science & Technology*, 48, 260-268.
- Codex Alimentarius** (2011). Milk and Milk Products, *FAO/WHO*, 2nd Edition, Rome.
- de Brabandere A.G., de Baerdemaeker J.G.** (1999). Effects of process conditions on the pH development during yoghurt fermentation. *Journal of Food Engineering*, 41, 221-227.
- Donkor O.N., Henriksson A., Singh T.K., Vasiljevic T., Shah N.P.** (2007). ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt, *International Dairy Journal*, 17, 1321–1331
- Farnsworth J.P., Li J., Hendricks G.M., Guo M.R.** (2006). Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*, 65, 113–121.
- Harte F., Luedecke L., Swanson B., Barbosa-Cánovas G.V.** (2003). Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. *Journal of Dairy Science*, 86, 1074-1082.
- Huppertz T., Smiddy M.A., Upadhyay V.K., Kelly A.L.** (2006). High-pressure-induced changes in bovine milk: a review. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 58-66.
- Korhonen H., Pihlanto A.** (2006). Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16, 945–960.
- Lauber S., Henle T., Klostermeyer H.** (2000). Relationship between the cross-linking of caseins by transglutaminase and the gel strength of yoghurt. *European Food Research & Technology*, 210, 305-309.
- Lorenzen P.C., Neve H., Mautner A., Schlimme E.** (2002). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt, *International Journal of Dairy Technology*, 55, 152-157.
- Meisel H., Goepfert A., Günther S.** (1997). ACE-inhibitory activities in milk products. *Milchwissenschaft*, 52, 307–311.
- O’Connell J.E., de Kruif C.G.** (2003). β -casein micelles; cross-linking with transglutaminase. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 216, 75-81.
- Özer B., Kirmaci H.A., Oztekin S., Hayaloglu, A.** (2007). Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International Dairy Journal*, 17, 199-207.
- Papadimitriou C.G., Vafopoulou-Mastrojiannaki A., Silva S.V., Gomes A.M., Malcata F.X., Alichanidis E.** (2007). Identification of peptides in traditional and probiotic sheep milk yoghurt with angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. *Food Chemistry*, 105, 647–656.

Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (2007). *Yoghurt: Science & Technology* (3rd Ed.). CRC Press, UK.

Tsevdou M.S., Eleftheriou E.G., Taoukis P.S. (2013a). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 144–152.

Tsevdou M., Soukoulis C., Gasperi F., Taoukis P. S., Biasioli F.(2013b). Monitoring the effect of high pressure and transglutaminase treatment of milk on the evolution of flavor compounds during lactic acid fermentation using PTR-ToF-MS, *Food Chemistry*, 138, 2159-2167.

Udabage P., Augustin M.A., Versteeg C., Puvanenthiran A., Yoo J.A., Allen N., McKinnon I., Smiddy M., Kelly A.L. (2010). Properties of low-fat stirred yoghurts made from high-pressure-processed skim milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 32-38.

Unal G., Akalm A. S. (2012). Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of yoghurt fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Dairy Science & Technology*, 92, 627-639.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Πίνακες κύριων αλληλεπιδράσεων της ανάλυσης διακύμανσης για τα δεδομένα από τα προϊόντα αγελαδινού γάλακτος
2. Πίνακας ιδιοτιμών της ανάλυσης κύριων συνιστωσών για τη μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας και της σύστασης του αγελαδινού γάλακτος στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων
3. Πίνακες κύριων αλληλεπιδράσεων της ανάλυσης διακύμανσης για τα δεδομένα από τα προϊόντα πρόβειου γάλακτος
4. Πίνακας ιδιοτιμών της ανάλυσης κύριων συνιστωσών για τη μελέτη της επίδρασης της επεξεργασίας και της σύστασης του πρόβειου γάλακτος στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων
5. Πίνακες κύριων αλληλεπιδράσεων της ανάλυσης διακύμανσης για τα δεδομένα από τη σύγκριση των προϊόντων του αγελαδινού και του πρόβειο γάλακτος
6. Πίνακας ιδιοτιμών της ανάλυσης κύριων συνιστωσών για τη μελέτη της επίδρασης της προέλευσης, της επεξεργασίας και της σύστασης του γάλακτος στα ποιοτικά και βιο-λειτουργικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΥΡΙΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

<i>Μέγιστος Ρυθμός Οξίνισης μ (pH/min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	0.016561	1	0.016561	35808.58	0.000000
{1}Treatment	0.000001	1	0.000001	1.62	0.212039
{2}TGase	0.000002	1	0.000002	5.25	0.028620
{3}Protein Addition	0.000001	1	0.000001	2.74	0.107608
{4}Fat	0.000016	1	0.000016	34.31	0.000002
Treatment*TGase	0.000000	1	0.000000	0.58	0.450430
Treatment*Protein Addition	0.000000	1	0.000000	0.79	0.379368
TGase*Protein Addition	0.000000	1	0.000000	0.15	0.704965
Treatment*Fat	0.000000	1	0.000000	0.26	0.613987
TGase*Fat	0.000000	1	0.000000	0.58	0.450430
Protein Addition*Fat	0.000001	1	0.000001	1.96	0.170905
Treatment*TGase*Protein Addition	0.000018	1	0.000018	38.94	0.000001
Treatment*TGase*Fat	0.000000	1	0.000000	1.04	0.315966
Treatment*Protein Addition*Fat	0.000004	1	0.000004	8.58	0.006223
TGase*Protein Addition*Fat	0.000001	1	0.000001	2.74	0.107608
1*2*3*4	0.000000	1	0.000000	0.79	0.379368
Error	0.000015	32	0.000000		

<i>Λανθάνουσα Φάση λ (min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	548204.6	1	548204.6	94558.80	0.000000
{1}Treatment	405.4	1	405.4	69.93	0.000000
{2}TGase	1717.2	1	1717.2	296.20	0.000000
{3}Protein Addition	839.2	1	839.2	144.75	0.000000
{4}Fat	0.0	1	0.0	0.01	0.928912
Treatment*TGase	148.1	1	148.1	25.54	0.000017
Treatment*Protein Addition	30.2	1	30.2	5.22	0.029155
TGase*Protein Addition	236.3	1	236.3	40.76	0.000000
Treatment*Fat	4.5	1	4.5	0.78	0.384779
TGase*Fat	345.1	1	345.1	59.52	0.000000
Protein Addition*Fat	176.7	1	176.7	30.48	0.000004
Treatment*TGase*Protein Addition	68.4	1	68.4	11.80	0.001660
Treatment*TGase*Fat	0.1	1	0.1	0.02	0.900610
Treatment*Protein Addition*Fat	172.1	1	172.1	29.69	0.000005
TGase*Protein Addition*Fat	11.1	1	11.1	1.92	0.175709
1*2*3*4	12.3	1	12.3	2.12	0.154947
Error	185.5	32	5.8		

<i>Χρόνος Ζύμωσης (min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	2205919	1	2205919	37152.32	0.000000
{1}Treatment	469	1	469	7.89	0.008387
{2}TGase	3169	1	3169	53.37	0.000000
{3}Protein Addition	2700	1	2700	45.47	0.000000
{4}Fat	1200	1	1200	20.21	0.000085
Treatment*TGase	169	1	169	2.84	0.101552
Treatment*Protein Addition	75	1	75	1.26	0.269415
TGase*Protein Addition	300	1	300	5.05	0.031611
Treatment*Fat	675	1	675	11.37	0.001966
TGase*Fat	75	1	75	1.26	0.269415
Protein Addition*Fat	919	1	919	15.47	0.000422
Treatment*TGase*Protein Addition	1875	1	1875	31.58	0.000003
Treatment*TGase*Fat	0	1	0	0.00	1.000000
Treatment*Protein Addition*Fat	169	1	169	2.84	0.101552
TGase*Protein Addition*Fat	19	1	19	0.32	0.578064
1*2*3*4	169	1	169	2.84	0.101552
Error	1900	32	59		

<i>pH</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	1755.807	1	1755.807	1169198	0.000000
{1}Treatment	0.131	3	0.044	29	0.000000
{2}Protein Addition	0.006	1	0.006	4	0.054888
{3}Fat	0.000	1	0.000	0	0.617583
{4}Storage	0.778	1	0.778	518	0.000000
Treatment*Protein Addition	0.131	3	0.044	29	0.000000
Treatment*Fat	0.103	3	0.034	23	0.000000
Protein Addition *Fat	0.020	1	0.020	13	0.000578
Treatment*storage	0.058	3	0.019	13	0.000001
Protein*Storage	0.191	1	0.191	127	0.000000
Fat*Storage	0.011	1	0.011	7	0.008001
Treatment*Protein Addition *Fat	0.042	3	0.014	9	0.000032
Treatment*Protein Addition *Storage	0.040	3	0.013	9	0.000051
Treatment*Fat*Storage	0.060	3	0.020	13	0.000001
Protein*Fat*Storage	0.009	1	0.009	6	0.014965
1*2*3*4	0.052	3	0.017	11	0.000004
Error	0.096	64	0.002		

Οξύτητα (% Γαλακτικό Οξύ)	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	ρ
Intercept	93.19258	1	93.19258	37300.17	0.000000
{1}Treatment	0.07695	3	0.02565	10.27	0.000013
{2}Protein Addition	0.00993	1	0.00993	3.97	0.050515
{3}Fat	0.03573	1	0.03573	14.30	0.000345
{4}Storage	0.73428	1	0.73428	293.89	0.000000
Treatment*Protein Addition	0.08724	3	0.02908	11.64	0.000004
Treatment*Fat	0.09216	3	0.03072	12.30	0.000002
Protein Addition *Fat	0.06916	1	0.06916	27.68	0.000002
Treatment*storage	0.05731	3	0.01910	7.65	0.000191
Protein*Storage	0.16055	1	0.16055	64.26	0.000000
Fat*Storage	0.01126	1	0.01126	4.51	0.037601
Treatment*Protein Addition *Fat	0.05302	3	0.01767	7.07	0.000352
Treatment*Protein Addition *Storage	0.05218	3	0.01739	6.96	0.000398
Treatment*Fat*Storage	0.09134	3	0.03045	12.19	0.000002
Protein*Fat*Storage	0.04160	1	0.04160	16.65	0.000127
1*2*3*4	0.12642	3	0.04214	16.87	0.000000
Error	0.15990	64	0.00250		

Ορός	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	ρ
Intercept	134783.1	1	134783.1	23185.80	0.000000
{1}Treatment	4642.7	3	1547.6	266.21	0.000000
{2}Protein Addition	3255.7	1	3255.7	560.06	0.000000
{3}Fat	1299.2	1	1299.2	223.49	0.000000
{4}Storage	150.9	1	150.9	25.96	0.000003
Treatment*Protein Addition	568.9	3	189.6	32.62	0.000000
Treatment*Fat	146.2	3	48.7	8.39	0.000088
Protein Addition *Fat	40.7	1	40.7	7.01	0.010200
Treatment*storage	29.5	3	9.8	1.69	0.177085
Protein*Storage	47.8	1	47.8	8.22	0.005614
Fat*Storage	4.8	1	4.8	0.83	0.365070
Treatment*Protein Addition *Fat	24.7	3	8.2	1.42	0.246376
Treatment*Protein Addition *Storage	162.8	3	54.3	9.34	0.000033
Treatment*Fat*Storage	117.1	3	39.0	6.72	0.000519
Protein*Fat*Storage	0.0	1	0.0	0.00	1.000000
1*2*3*4	76.5	3	25.5	4.39	0.007179
Error	372.0	64	5.8		

Σφικτότητα (g)	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	2191589	1	2191589	33296.81	0.000000
{1}Treatment	665107	3	221702	3368.32	0.000000
{2}Protein Addition	1780	1	1780	27.04	0.000002
{3}Fat	58543	1	58543	889.45	0.000000
{4}Storage	15592	1	15592	236.88	0.000000
Treatment*Protein Addition	31093	3	10364	157.47	0.000000
Treatment*Fat	8569	3	2856	43.39	0.000000
Protein Addition *Fat	9847	1	9847	149.60	0.000000
Treatment*storage	8939	3	2980	45.27	0.000000
Protein*Storage	1	1	1	0.02	0.894476
Fat*Storage	1	1	1	0.02	0.884542
Treatment*Protein Addition *Fat	1477	3	492	7.48	0.000227
Treatment*Protein Addition *Storage	102	3	34	0.51	0.673963
Treatment*Fat*Storage	1024	3	341	5.19	0.002856
Protein*Fat*Storage	962	1	962	14.62	0.000301
1*2*3*4	1021	3	340	5.17	0.002909
Error	4212	64	66		

Προσκολλησιμότητα (g·s)	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	200465.3	1	200465.3	16035.82	0.000000
{1}Treatment	32361.0	3	10787.0	862.88	0.000000
{2}Protein Addition	1065.9	1	1065.9	85.26	0.000000
{3}Fat	10602.4	1	10602.4	848.12	0.000000
{4}Storage	1343.0	1	1343.0	107.43	0.000000
Treatment*Protein Addition	7617.9	3	2539.3	203.13	0.000000
Treatment*Fat	6031.6	3	2010.5	160.83	0.000000
Protein Addition *Fat	652.6	1	652.6	52.20	0.000000
Treatment*storage	1595.6	3	531.9	42.54	0.000000
Protein*Storage	3.5	1	3.5	0.28	0.596903
Fat*Storage	0.0	1	0.0	0.00	1.000000
Treatment*Protein Addition *Fat	5999.9	3	2000.0	159.98	0.000000
Treatment*Protein Addition *Storage	331.0	3	110.3	8.83	0.000056
Treatment*Fat*Storage	30.5	3	10.2	0.81	0.490510
Protein*Fat*Storage	126.9	1	126.9	10.15	0.002231
1*2*3*4	112.6	3	37.5	3.00	0.036895
Error	800.1	64	12.5		

<i>Συνεκτικότητα</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	26.25072	1	26.25072	41869.71	0.000000
{1}Treatment	0.07607	3	0.02536	40.44	0.000000
{2}Protein Addition	0.06707	1	0.06707	106.98	0.000000
{3}Fat	0.00584	1	0.00584	9.32	0.003300
{4}Storage	0.00144	1	0.00144	2.30	0.134473
Treatment*Protein Addition	0.02738	3	0.00913	14.56	0.000000
Treatment*Fat	0.00794	3	0.00265	4.22	0.008727
Protein Addition *Fat	0.00135	1	0.00135	2.15	0.147679
Treatment*storage	0.00459	3	0.00153	2.44	0.072565
Protein*Storage	0.00000	1	0.00000	0.00	0.970774
Fat*Storage	0.00048	1	0.00048	0.77	0.384771
Treatment*Protein Addition *Fat	0.00351	3	0.00117	1.87	0.144002
Treatment*Protein Addition *Storage	0.01831	3	0.00610	9.73	0.000022
Treatment*Fat*Storage	0.00117	3	0.00039	0.62	0.604153
Protein*Fat*Storage	0.00251	1	0.00251	4.01	0.049538
1*2*3*4	0.01003	3	0.00334	5.33	0.002419
Error	0.04013	64	0.00063		

<i>Κομμιώδες (g)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	569036.8	1	569036.8	9254.320	0.000000
{1}Treatment	137396.0	3	45798.7	744.830	0.000000
{2}Protein Addition	801.2	1	801.2	13.030	0.000602
{3}Fat	18027.4	1	18027.4	293.182	0.000000
{4}Storage	3000.1	1	3000.1	48.791	0.000000
Treatment*Protein Addition	3411.5	3	1137.2	18.494	0.000000
Treatment*Fat	1192.3	3	397.4	6.464	0.000685
Protein Addition *Fat	4466.7	1	4466.7	72.642	0.000000
Treatment*storage	889.2	3	296.4	4.821	0.004347
Protein*Storage	67.6	1	67.6	1.099	0.298340
Fat*Storage	62.3	1	62.3	1.013	0.317957
Treatment*Protein Addition *Fat	201.4	3	67.1	1.092	0.359024
Treatment*Protein Addition *Storage	686.5	3	228.8	3.722	0.015668
Treatment*Fat*Storage	143.8	3	47.9	0.780	0.509709
Protein*Fat*Storage	186.9	1	186.9	3.039	0.086094
1*2*3*4	466.9	3	155.6	2.531	0.064911
Error	3935.3	64	61.5		

% ACE- ανασταλτική δράση	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	577812.7	1	577812.7	26138.14	0.000000
{1}Treatment	417.9	3	139.3	6.30	0.000819
{2}Protein Addition	202.4	1	202.4	9.16	0.003569
{3}Fat	2515.3	1	2515.3	113.78	0.000000
{4}Storage	548.7	1	548.7	24.82	0.000005
Treatment*Protein Addition	1931.1	3	643.7	29.12	0.000000
Treatment*Fat	729.2	3	243.1	11.00	0.000006
Protein Addition *Fat	5057.3	1	5057.3	228.77	0.000000
Treatment*storage	392.5	3	130.8	5.92	0.001253
Protein*Storage	290.3	1	290.3	13.13	0.000575
Fat*Storage	219.5	1	219.5	9.93	0.002476
Treatment*Protein Addition *Fat	1362.7	3	454.2	20.55	0.000000
Treatment*Protein Addition *Storage	574.3	3	191.4	8.66	0.000066
Treatment*Fat*Storage	983.7	3	327.9	14.83	0.000000
Protein*Fat*Storage	97.8	1	97.8	4.42	0.039402
1*2*3*4	268.5	3	89.5	4.05	0.010662
Error	1414.8	64	22.1		

% πρωτεΐνη	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	1347.301	1	1347.301	38914.74	0.000000
{1}Treatment	22.660	3	7.553	218.17	0.000000
{2}Protein Addition	4.779	1	4.779	138.04	0.000000
{3}Fat	94.983	1	94.983	2743.43	0.000000
{4}Storage	2.053	1	2.053	59.31	0.000000
Treatment*Protein Addition	1.222	3	0.407	11.77	0.000003
Treatment*Fat	3.092	3	1.031	29.77	0.000000
Protein Addition *Fat	0.335	1	0.335	9.67	0.002792
Treatment*storage	0.135	3	0.045	1.30	0.282759
Protein*Storage	0.135	1	0.135	3.90	0.052625
Fat*Storage	0.014	1	0.014	0.41	0.523319
Treatment*Protein Addition *Fat	0.153	3	0.051	1.47	0.231195
Treatment*Protein Addition *Storage	1.103	3	0.368	10.62	0.000009
Treatment*Fat*Storage	0.007	3	0.002	0.07	0.976219
Protein*Fat*Storage	0.171	1	0.171	4.94	0.029862
1*2*3*4	0.389	3	0.130	3.74	0.015317
Error	2.216	64	0.035		

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΔΙΟΤΙΜΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7	Factor 8
pH	-0.8580	0.1254	-0.1167	-0.4369	0.1726	0.0016	0.0946	-0.0682
Οξύτητα	0.8100	-0.1906	0.3773	0.2748	0.0384	-0.2801	0.0843	-0.0498
Ορός	-0.0769	-0.9524	-0.1555	-0.0735	0.1880	-0.0937	-0.1088	-0.0373
Σφικτότητα	0.7458	0.6262	-0.0805	-0.0902	-0.1169	0.0916	-0.0956	-0.0754
Προσκολλητα	-0.6734	-0.3887	0.3372	0.1751	-0.4547	0.2070	0.0028	-0.0367
Συνεκτικότητα	-0.6636	0.3396	0.5409	-0.2496	-0.0170	-0.2859	-0.0830	0.0141
% Πρωτεΐνη	-0.6135	0.2925	0.1669	0.5733	0.3988	0.1450	-0.0300	-0.0190
% IACE	0.6301	-0.2144	0.5248	-0.3679	0.2314	0.3036	0.0067	0.0130

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΥΡΙΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

<i>Μέγιστος Ρυθμός Οξίνισης μ (pH/min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	0.006096	1	0.006096	180625.0	0.000000
Treatment	0.000068	1	0.000068	2025.0	0.000000
TGase	0.000002	1	0.000002	58.8	0.000001
Fat	0.000018	1	0.000018	529.0	0.000000
Treatment*TGase	0.000004	1	0.000004	106.8	0.000000
Treatment*Fat	0.000001	1	0.000001	32.1	0.000035
TGase*Fat	0.000002	1	0.000002	49.0	0.000003
Treatment*TGase*Fat	0.000000	1	0.000000	1.0	0.332195
Error	0.000001	16	0.000000		

<i>Λανθάνουσα Φάση λ (min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	221472.1	1	221472.1	157631.4	0.000000
Treatment	0.1	1	0.1	0.1	0.799458
TGase	271.4	1	271.4	193.1	0.000000
Fat	66.3	1	66.3	47.2	0.000004
Treatment*TGase	488.7	1	488.7	347.8	0.000000
Treatment*Fat	28.4	1	28.4	20.2	0.000368
TGase*Fat	2.7	1	2.7	1.9	0.182112
Treatment*TGase*Fat	14.0	1	14.0	9.9	0.006177
Error	22.5	16	1.4		

<i>Χρόνος Ζύμωσης (min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	1382400	1	1382400	55296.00	0.000000
Treatment	18150	1	18150	726.00	0.000000
TGase	1350	1	1350	54.00	0.000002
Fat	2400	1	2400	96.00	0.000000
Treatment*TGase	600	1	600	24.00	0.000161
Treatment*Fat	1350	1	1350	54.00	0.000002
TGase*Fat	150	1	150	6.00	0.026199
Treatment*TGase*Fat	0	1	0	0.00	1.000000
Error	400	16	25		

<i>pH</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	926.8660	1	926.8660	1597439	0.000000
Treatment	0.0347	3	0.0116	20	0.000000
Fat Content	0.0019	1	0.0019	3	0.083141
Storage	0.2030	1	0.2030	350	0.000000
Treatment*Fat	0.0273	3	0.0091	16	0.000002
Treatment*Storage	0.0512	3	0.0171	29	0.000000
Fat *Storage	0.0219	1	0.0219	38	0.000001
Treatment*Fat*Storage	0.0181	3	0.0060	10	0.000064
Error	0.0186	32	0.0006		

<i>Οξύτητα (% Γαλακτικό Οξύ)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	34.98027	1	34.98027	5592.456	0.000000
Treatment	0.06349	3	0.02116	3.384	0.029968
Fat Content	0.00110	1	0.00110	0.177	0.677139
Storage	0.35772	1	0.35772	57.191	0.000000
Treatment*Fat	0.04611	3	0.01537	2.457	0.080837
Treatment*Storage	0.17006	3	0.05669	9.063	0.000172
Fat *Storage	0.02386	1	0.02386	3.815	0.059583
Treatment*Fat*Storage	0.03577	3	0.01192	1.906	0.148452
Error	0.20016	32	0.00625		

<i>Ορός</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	17986.30	1	17986.30	2960.625	0.000000
Treatment	2255.46	3	751.82	123.753	0.000000
Fat Content	30.08	1	30.08	4.952	0.033239
Storage	0.37	1	0.37	0.061	0.805870
Treatment*Fat	19.46	3	6.49	1.068	0.376574
Treatment*Storage	126.91	3	42.30	6.963	0.000977
Fat *Storage	44.54	1	44.54	7.332	0.010781
Treatment*Fat*Storage	42.74	3	14.25	2.345	0.091446
Error	194.41	32	6.08		

<i>Σφικτότητα (g)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	4893804	1	4893804	47351.76	0.000000
Treatment	696402	3	232134	2246.10	0.000000
Fat Content	121056	1	121056	1171.32	0.000000
Storage	46729	1	46729	452.14	0.000000
Treatment*Fat	20514	3	6838	66.16	0.000000
Treatment*Storage	2231	3	744	7.20	0.000798
Fat *Storage	2362	1	2362	22.85	0.000038
Treatment*Fat*Storage	7435	3	2478	23.98	0.000000
Error	3307	32	103		

<i>Προσκολλησιμότητα (g·s)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	447544.2	1	447544.2	10357.64	0.000000
Treatment	30063.2	3	10021.1	231.92	0.000000
Fat Content	1975.7	1	1975.7	45.72	0.000000
Storage	179.2	1	179.2	4.15	0.050033
Treatment*Fat	5006.5	3	1668.8	38.62	0.000000
Treatment*Storage	3612.8	3	1204.3	27.87	0.000000
Fat *Storage	1017.7	1	1017.7	23.55	0.000030
Treatment*Fat*Storage	8691.6	3	2897.2	67.05	0.000000
Error	1382.7	32	43.2		

<i>Συνεκτικότητα</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	14.65742	1	14.65742	16346.40	0.000000
Treatment	0.06894	3	0.02298	25.63	0.000000
Fat Content	0.00337	1	0.00337	3.76	0.061476
Storage	0.01217	1	0.01217	13.58	0.000842
Treatment*Fat	0.01505	3	0.00502	5.60	0.003350
Treatment*Storage	0.00204	3	0.00068	0.76	0.525043
Fat *Storage	0.00190	1	0.00190	2.12	0.155473
Treatment*Fat*Storage	0.01748	3	0.00583	6.50	0.001470
Error	0.02869	32	0.00090		

<i>Κομμιώδες (g)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	1455348	1	1455348	21732.50	0.000000
Treatment	299688	3	99896	1491.73	0.000000
Fat Content	43339	1	43339	647.17	0.000000
Storage	1786	1	1786	26.67	0.000012
Treatment*Fat	21253	3	7084	105.79	0.000000
Treatment*Storage	6121	3	2040	30.47	0.000000
Fat *Storage	825	1	825	12.32	0.001357
Treatment*Fat*Storage	5546	3	1849	27.61	0.000000
Error	2143	32	67		

<i>% ACE- ανασταλτική δράση</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	306332.1	1	306332.1	15772.88	0.000000
Treatment	2145.8	3	715.3	36.83	0.000000
Fat Content	1685.9	1	1685.9	86.81	0.000000
Storage	5106.7	1	5106.7	262.94	0.000000
Treatment*Fat	901.6	3	300.5	15.47	0.000002
Treatment*Storage	650.1	3	216.7	11.16	0.000036
Fat *Storage	1.8	1	1.8	0.09	0.760442
Treatment*Fat*Storage	238.1	3	79.4	4.09	0.014533
Error	621.5	32	19.4		

<i>% πρωτεΐνη</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	611.7552	1	611.7552	18371.03	0.000000
Treatment	0.8704	3	0.2901	8.71	0.000227
Fat Content	1.4911	1	1.4911	44.78	0.000000
Storage	0.0027	1	0.0027	0.08	0.777672
Treatment*Fat	1.9545	3	0.6515	19.56	0.000000
Treatment*Storage	0.8022	3	0.2674	8.03	0.000395
Fat *Storage	0.3888	1	0.3888	11.68	0.001742
Treatment*Fat*Storage	1.1512	3	0.3837	11.52	0.000028
Error	1.0656	32	0.0333		

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΔΙΟΤΙΜΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7	Factor 8
pH	-0.5327	0.5946	0.3034	-0.1848	0.4110	-0.2591	-0.0102	0.0095
Οξύτητα	0.5917	0.3239	0.4479	0.5747	0.0687	0.0394	0.0834	-0.0233
Ορός	0.8548	0.3266	0.2562	-0.1614	0.0920	0.1976	-0.1519	-0.0169
Σφικτότητα	-0.7603	-0.3325	0.3948	0.2049	-0.2804	-0.1487	-0.1002	-0.0504
Προσκολλητα	-0.5906	0.5373	-0.5531	0.1837	0.0925	0.0882	-0.0197	-0.0771
Συνεκτικότητα	-0.8932	0.2297	0.0263	0.3229	-0.0037	0.1833	-0.0548	0.0872
% Πρωτεΐνη	0.7887	0.0059	-0.4159	0.3477	0.0155	-0.2752	-0.0825	0.0321
% IACE	0.1373	0.8083	0.0194	-0.1613	-0.5431	-0.0749	0.0235	0.0146

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΥΡΙΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΗ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΟΥ ΑΓΕΛΛΑΔΙΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

<i>Μέγιστος Ρυθμός Οξίνισης μ (pH/min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	0.014159	1	0.014159	32976.00	0.000000
Milk	0.000074	1	0.000074	171.20	0.000000
Treatment	0.000033	1	0.000033	76.09	0.000000
TGase	0.000003	1	0.000003	6.31	0.017280
Fat	0.000020	1	0.000020	47.23	0.000000
Milk*Treatment	0.000036	1	0.000036	83.16	0.000000
Milk*TGase	0.000000	1	0.000000	0.28	0.600693
Treatment*TGase	0.000010	1	0.000010	23.91	0.000027
Milk*Fat	0.000002	1	0.000002	5.05	0.031683
Treatment*Fat	0.000004	1	0.000004	8.45	0.006567
TGase*Fat	0.000000	1	0.000000	0.86	0.361815
Milk*Treatment*TGase	0.000000	1	0.000000	0.63	0.433629
Milk*Treatment*Fat	0.000000	1	0.000000	0.44	0.513458
Milk*TGase*Fat	0.000001	1	0.000001	3.42	0.073524
Treatment*TGase*Fat	0.000000	1	0.000000	0.02	0.895682
Milk*Treatment*TGase*Fat	0.000000	1	0.000000	0.07	0.793223
Error	0.000014	32	0.000000		

<i>Λανθάνουσα Φάση λ (min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	514747.1	1	514747.1	346485.2	0.000000
Milk	2695.5	1	2695.5	1814.4	0.000000
Treatment	169.9	1	169.9	114.3	0.000000
TGase	1604.3	1	1604.3	1079.9	0.000000
Fat	156.6	1	156.6	105.4	0.000000
Milk*Treatment	158.8	1	158.8	106.9	0.000000
Milk*TGase	280.8	1	280.8	189.0	0.000000
Treatment*TGase	29.3	1	29.3	19.7	0.000100
Milk*Fat	1.0	1	1.0	0.7	0.419915
Treatment*Fat	129.7	1	129.7	87.3	0.000000
TGase*Fat	77.3	1	77.3	52.0	0.000000
Milk*Treatment*TGase	668.3	1	668.3	449.8	0.000000
Milk*Treatment*Fat	14.9	1	14.9	10.0	0.003421
Milk*TGase*Fat	41.6	1	41.6	28.0	0.000008
Treatment*TGase*Fat	0.5	1	0.5	0.4	0.550140
Milk*Treatment*TGase*Fat	20.7	1	20.7	13.9	0.000742
Error	47.5	32	1.5		

<i>Χρόνος Ζύμωσης (min)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	2559942	1	2559942	46810.37	0.000000
Milk	3942	1	3942	72.09	0.000000
Treatment	7880	1	7880	144.09	0.000000
TGase	3942	1	3942	72.09	0.000000
Fat	4505	1	4505	82.37	0.000000
Milk*Treatment	10355	1	10355	189.34	0.000000
Milk*TGase	117	1	117	2.14	0.152990
Treatment*TGase	1055	1	1055	19.29	0.000115
Milk*Fat	5	1	5	0.09	0.771588
Treatment*Fat	2067	1	2067	37.80	0.000001
TGase*Fat	5	1	5	0.09	0.771588
Milk*Treatment*TGase	5	1	5	0.09	0.771588
Milk*Treatment*Fat	42	1	42	0.77	0.386323
Milk*TGase*Fat	230	1	230	4.20	0.048696
Treatment*TGase*Fat	42	1	42	0.77	0.386323
Milk*Treatment*TGase*Fat	42	1	42	0.77	0.386323
Error	1750	32	55		

<i>pH</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	1801.220	1	1801.220	3711339	0.000000
Milk	0.377	1	0.377	777	0.000000
Treatment	0.029	3	0.010	20	0.000000
Fat	0.001	1	0.001	2	0.177956
Storage	0.293	1	0.293	603	0.000000
Milk*Treatment	0.139	3	0.046	96	0.000000
Milk*Fat	0.008	1	0.008	17	0.000108
Treatment*Fat	0.129	3	0.043	89	0.000000
Milk*Storage	0.009	1	0.009	19	0.000047
Treatment*Storage	0.066	3	0.022	46	0.000000
Fat*Storage	0.000	1	0.000	0	0.889899
Milk*Treatment*Fat	0.019	3	0.006	13	0.000001
Milk*Treatment*Storage	0.035	3	0.012	24	0.000000
Milk*Fat*Storage	0.042	1	0.042	87	0.000000
Treatment*Fat*Storage	0.013	3	0.004	9	0.000036
Milk*Treatment*Fat*Storage	0.025	3	0.008	17	0.000000
Error	0.031	64	0.000		

<i>Οξύτητα (% Γαλακτικό Οξύ)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	82.06093	1	82.06093	24477.37	0.000000
Milk	0.48234	1	0.48234	143.87	0.000000
Treatment	0.02106	3	0.00702	2.09	0.109722
Fat	0.00018	1	0.00018	0.05	0.816755
Storage	0.42384	1	0.42384	126.42	0.000000
Milk*Treatment	0.10176	3	0.03392	10.12	0.000015
Milk*Fat	0.00366	1	0.00366	1.09	0.300229
Treatment*Fat	0.13995	3	0.04665	13.91	0.000000
Milk*Storage	0.03795	1	0.03795	11.32	0.001299
Treatment*Storage	0.18523	3	0.06174	18.42	0.000000
Fat*Storage	0.00364	1	0.00364	1.09	0.301444
Milk*Treatment*Fat	0.00765	3	0.00255	0.76	0.520072
Milk*Treatment*Storage	0.04980	3	0.01660	4.95	0.003742
Milk*Fat*Storage	0.02501	1	0.02501	7.46	0.008142
Treatment*Fat*Storage	0.07566	3	0.02522	7.52	0.000218
Milk*Treatment*Fat*Storage	0.07546	3	0.02515	7.50	0.000222
Error	0.21456	64	0.00335		

<i>Ορός</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	94203.42	1	94203.42	13804.96	0.000000
Milk	13750.22	1	13750.22	2015.01	0.000000
Treatment	5379.99	3	1793.33	262.80	0.000000
Fat	350.02	1	350.02	51.29	0.000000
Storage	100.60	1	100.60	14.74	0.000285
Milk*Treatment	410.58	3	136.86	20.06	0.000000
Milk*Fat	119.95	1	119.95	17.58	0.000086
Treatment*Fat	26.26	3	8.75	1.28	0.287880
Milk*Storage	84.02	1	84.02	12.31	0.000829
Treatment*Storage	119.14	3	39.71	5.82	0.001399
Fat*Storage	34.05	1	34.05	4.99	0.029001
Milk*Treatment*Fat	113.09	3	37.70	5.52	0.001949
Milk*Treatment*Storage	96.81	3	32.27	4.73	0.004831
Milk*Fat*Storage	12.98	1	12.98	1.90	0.172567
Treatment*Fat*Storage	48.77	3	16.26	2.38	0.077590
Milk*Treatment*Fat*Storage	12.71	3	4.24	0.62	0.604048
Error	436.73	64	6.82		

Σφικτότητα (g)	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	5453994	1	5453994	72872.96	0.000000
Milk	648717	1	648717	8667.76	0.000000
Treatment	1175707	3	391902	5236.36	0.000000
Fat	101090	1	101090	1350.70	0.000000
Storage	47247	1	47247	631.29	0.000000
Milk*Treatment	14336	3	4779	63.85	0.000000
Milk*Fat	30989	1	30989	414.05	0.000000
Treatment*Fat	25102	3	8367	111.80	0.000000
Milk*Storage	8018	1	8018	107.14	0.000000
Treatment*Storage	3597	3	1199	16.02	0.000000
Fat*Storage	311	1	311	4.16	0.045434
Milk*Treatment*Fat	2905	3	968	12.94	0.000001
Milk*Treatment*Storage	3039	3	1013	13.54	0.000001
Milk*Fat*Storage	2637	1	2637	35.23	0.000000
Treatment*Fat*Storage	4360	3	1453	19.42	0.000000
Milk*Treatment*Fat*Storage	3146	3	1049	14.01	0.000000
Error	4865	65	75		

Προσκολλησιμότητα (g·s)	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	513262.9	1	513262.9	16997.31	0.000000
Milk	54468.5	1	54468.5	1803.79	0.000000
Treatment	30001.0	3	10000.3	331.17	0.000000
Fat	9154.2	1	9154.2	303.15	0.000000
Storage	854.3	1	854.3	28.29	0.000001
Milk*Treatment	31252.1	3	10417.4	344.98	0.000000
Milk*Fat	1060.9	1	1060.9	35.13	0.000000
Treatment*Fat	817.7	3	272.6	9.03	0.000044
Milk*Storage	104.5	1	104.5	3.46	0.067424
Treatment*Storage	2004.7	3	668.2	22.13	0.000000
Fat*Storage	824.3	1	824.3	27.30	0.000002
Milk*Treatment*Fat	13538.1	3	4512.7	149.44	0.000000
Milk*Treatment*Storage	2161.1	3	720.4	23.86	0.000000
Milk*Fat*Storage	274.9	1	274.9	9.11	0.003637
Treatment*Fat*Storage	4846.4	3	1615.5	53.50	0.000000
Milk*Treatment*Fat*Storage	3987.3	3	1329.1	44.01	0.000000
Error	1962.8	65	30.2		

<i>Συνεκτικότητα</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	26.69822	1	26.69822	31060.63	0.000000
Milk	0.07212	1	0.07212	83.91	0.000000
Treatment	0.02098	3	0.00699	8.13	0.000112
Fat	0.00289	1	0.00289	3.36	0.071306
Storage	0.00801	1	0.00801	9.32	0.003278
Milk*Treatment	0.08919	3	0.02973	34.59	0.000000
Milk*Fat	0.00082	1	0.00082	0.95	0.332215
Treatment*Fat	0.00219	3	0.00073	0.85	0.471976
Milk*Storage	0.00451	1	0.00451	5.24	0.025299
Treatment*Storage	0.00468	3	0.00156	1.81	0.153435
Fat*Storage	0.00142	1	0.00142	1.65	0.203143
Milk*Treatment*Fat	0.01991	3	0.00664	7.72	0.000173
Milk*Treatment*Storage	0.00210	3	0.00070	0.81	0.491339
Milk*Fat*Storage	0.00058	1	0.00058	0.68	0.412971
Treatment*Fat*Storage	0.00415	3	0.00138	1.61	0.195621
Milk*Treatment*Fat*Storage	0.01581	3	0.00527	6.13	0.000976
Error	0.05587	65	0.00086		

<i>Κομμώδες (g)</i>	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	1492876	1	1492876	29743.33	0.000000
Milk	241029	1	241029	4802.14	0.000000
Treatment	361465	3	120488	2400.55	0.000000
Fat	32629	1	32629	650.09	0.000000
Storage	3921	1	3921	78.12	0.000000
Milk*Treatment	30899	3	10300	205.20	0.000000
Milk*Fat	13209	1	13209	263.17	0.000000
Treatment*Fat	14447	3	4816	95.94	0.000000
Milk*Storage	7	1	7	0.14	0.712982
Treatment*Storage	4422	3	1474	29.37	0.000000
Fat*Storage	73	1	73	1.46	0.230882
Milk*Treatment*Fat	7622	3	2541	50.62	0.000000
Milk*Treatment*Storage	3103	3	1034	20.61	0.000000
Milk*Fat*Storage	1037	1	1037	20.67	0.000024
Treatment*Fat*Storage	2451	3	817	16.28	0.000000
Milk*Treatment*Fat*Storage	3144	3	1048	20.88	0.000000
Error	3262	65	50		

% ACE- ανασταλτική δράση	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	634428.9	1	634428.9	48646.47	0.000000
Milk	189.9	1	189.9	14.56	0.000308
Treatment	2337.9	3	779.3	59.75	0.000000
Fat	3303.7	1	3303.7	253.32	0.000000
Storage	986.6	1	986.6	75.65	0.000000
Milk*Treatment	429.2	3	143.1	10.97	0.000007
Milk*Fat	0.3	1	0.3	0.03	0.870792
Treatment*Fat	2224.9	3	741.6	56.87	0.000000
Milk*Storage	4851.2	1	4851.2	371.97	0.000000
Treatment*Storage	507.8	3	169.3	12.98	0.000001
Fat*Storage	20.6	1	20.6	1.58	0.213860
Milk*Treatment*Fat	1617.7	3	539.2	41.35	0.000000
Milk*Treatment*Storage	288.2	3	96.1	7.37	0.000257
Milk*Fat*Storage	6.9	1	6.9	0.53	0.471221
Treatment*Fat*Storage	121.6	3	40.5	3.11	0.032520
Milk*Treatment*Fat*Storage	551.4	3	183.8	14.09	0.000000
Error	834.7	64	13.0		

% πρωτεΐνη	SS	Degr. Of Freedom	MS	F	p
Intercept	959.0917	1	959.0917	23095.86	0.000000
Milk	16.0762	1	16.0762	387.13	0.000000
Treatment	6.5675	3	2.1892	52.72	0.000000
Fat	0.2693	1	0.2693	6.49	0.013288
Storage	0.6608	1	0.6608	15.91	0.000173
Milk*Treatment	1.7341	3	0.5780	13.92	0.000000
Milk*Fat	5.0440	1	5.0440	121.46	0.000000
Treatment*Fat	2.6974	3	0.8991	21.65	0.000000
Milk*Storage	0.5468	1	0.5468	13.17	0.000567
Treatment*Storage	0.4162	3	0.1387	3.34	0.024615
Fat*Storage	0.2152	1	0.2152	5.18	0.026180
Milk*Treatment*Fat	0.2883	3	0.0961	2.31	0.084241
Milk*Treatment*Storage	0.4618	3	0.1539	3.71	0.015950
Milk*Fat*Storage	0.1747	1	0.1747	4.21	0.044370
Treatment*Fat*Storage	0.0498	3	0.0166	0.40	0.753387
Milk*Treatment*Fat*Storage	2.0313	3	0.6771	16.31	0.000000
Error	2.6577	64	0.0415		

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΔΙΟΤΙΜΩΝ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ, ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟ-ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΤΕΛΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7	Factor 8
pH	-0.7727	-0.4384	0.2096	-0.0559	0.0479	0.3856	0.0349	-0.1061
Οξύτητα	-0.4522	-0.0752	-0.7495	-0.3617	0.2932	-0.0958	0.0211	-0.0380
Ορός	0.8758	-0.3254	-0.1375	-0.0026	0.1014	0.1042	-0.2940	-0.0204
Σφικτότητα	-0.5578	0.7032	0.2589	-0.2629	-0.1338	-0.0528	-0.1546	-0.1160
Προσοκλ/ητα	0.6033	-0.4725	0.5340	-0.2010	0.0839	-0.2419	0.0731	-0.1265
Συνεκτικότητα	-0.7539	-0.3336	0.4466	-0.2675	0.0604	-0.0714	-0.0927	0.1784
% Πρωτεΐνη	-0.5772	-0.5773	-0.3652	0.0849	-0.4014	-0.1625	-0.0574	-0.0431
% IACE	0.7913	0.0059	-0.1369	-0.4834	-0.2916	0.1668	0.0766	0.0503

